

Papierbasierte Mikrofluidik-Systeme mit SERS-Detektion

D i s s e r t a t i o n

zur Erlangung des akademischen Grades

d o c t o r r e r u m n a t u r a l i u m

(Dr. rer. nat.)

im Fach Chemie

eingereicht an der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Humboldt-Universität zu Berlin

von

M.Sc. Axel Bolz

Präsidentin der Humboldt-Universität zu Berlin

Prof. Dr.-Ing. Dr. Sabine Kunst

Dekan der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

Prof. Dr. Elmar Kulke

Gutachter:

1. Prof. Dr. Ulrich Panne

2. Prof. Dr. Dietrich Volmer

Tag der mündlichen Prüfung: 18.12.2018

Danksagung

Am Anfang dieser Arbeit möchte ich mich bei allen bedanken, durch die diese Dissertation an der Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung (BAM) ermöglicht wurde.

Ein besonderer Dank geht dabei an meinen Doktorvater Herrn Prof. Dr. Ulrich Panne für das spannende Thema der Doktorarbeit und die Möglichkeit, diese in den Fachbereichen 1.0 und 1.9 der BAM anzufertigen. Er unterstützte mich immer mit anregenden Kommentaren zu meiner Arbeit und stand immer für eine konstruktive Diskussion der Ergebnisse zur Verfügung.

Ein herzlicher Dank geht auch an meine direkte Betreuerin Frau Dr. Merwe Buurman für die Unterstützung in fachlichen und praktischen Fragen.

Danken möchte ich zudem meinem Fachbereichsleiter Herrn Dr. Knut Rurack für die fachliche und organisatorische Unterstützung meiner wissenschaftlichen Arbeit.

Weiter danke ich dem gesamten Fachbereich 1.9 Chemische und optische Sensorik der BAM für die freundliche und hilfsbereite Zusammenarbeit der Kollegen untereinander. Dabei sind Frau Dr. Estela Climent Terol, Frau Dr. Kornelia Gawlitza und Marvin Sens im Besonderen zu nennen für ihre Unterstützung mit mesoporösen Nanomaterialien, TEM-Messungen von Nanopartikeln und für einen Teil der SERS-Messungen.

Dank geht auch an den Fachbereich 1.4 Prozessanalytik für die Einweisung und die Nutzung der verschiedenen Messgeräte. Dabei möchte ich mich besonders bei Herrn Dr. Thomas Schmid, Frau Dr. Andrea Paul und Herrn Dr. Klas Meyer für ihre freundliche Unterstützung bedanken.

Weiterer Dank gilt Frau Ines Feldmann für SEM-Messungen und Herrn Sören Selve von der Zentraleinrichtung Elektronenmikroskopie (ZELMI) der TU Berlin für TEM-Messungen.

Zum Schluss geht ein ganz besonderer Dank an meine Familie, welche mich in der gesamten Zeit meines Studiums und der Promotion immer unterstützt hat.

Zusammenfassung

Schnelltests sind eine weit verbreitete Analysemethode, um vor Ort schnelle analytische Aussagen treffen zu können. Bei Schnelltests werden verschiedene Detektionsverfahren wie z.B. Farb- oder Fluoreszenzmessungen verwendet. Eine weitere Methode, die einen möglichen Zugang zu Schnelltests bieten könnte, ist die Messung von Raman-Spektren. Für die Analyse von gering konzentrierten Analyten ist der Raman-Effekt jedoch zu schwach. Daher wurde in dieser Arbeit die Oberflächenverstärkte Raman-Streuung (SERS) genutzt, bei der das Raman-Signal durch die Interaktion mit Metallnanopartikeln verstärkt wird und so auch geringe Analytkonzentrationen nachgewiesen werden können.

In der vorliegenden Arbeit wird insbesondere auf drei Aspekte der SERS-Messungen eingegangen: die Reproduzierbarkeit der SERS-Signalintensität, die Interpretation der Konzentrationskurven und die Analyse von Probengemischen. Für die Untersuchung der Reproduzierbarkeit wurden verschiedene Auftragungsmethoden und Messsysteme getestet und es wurde untersucht, wie reproduzierbar die Signalintensitäten über einen längeren Zeitraum sind. Dabei wurde festgestellt, dass die Kombination von einer homogenen Auftragung (Aufsprühen oder Auftropfen auf Papiere mit hydrophoben Barrieren) der Nanopartikelsuspensionen auf dem Papier und ein großer Durchmesser des Laser- und Detektionpunktes auf der Probe zu einer stabileren Signalintensität führen. Es konnte an einem angepassten Labormessaufbau gezeigt werden, dass es so möglich ist, relativ stabile Messungen mit einer relativen Standardabweichung von ca. 20 % über einen Zeitraum von ca. 2,5 Monaten durchzuführen.

Für die Analyse und Auswertung der Abhängigkeiten der SERS-Signalintensität von der Konzentration des Analyten wurden Konzentrationsreihen von verschiedenen Verbindungen aufgenommen. Die Messdaten konnten mit einer Langmuir-Isotherme beschrieben und mit dem Langmuir-SERS-Modell erklärt werden. Für die gemessenen Thiolverbindungen wurde zudem noch eine weitere Möglichkeit der quantitativen Analyse gefunden, die auf der Auswertung der Verschiebung von bestimmten SERS-Banden im Spektrum in Abhängigkeit von der Analytkonzentration beruht.

Für die Analysen der Mehrkomponenten-Lösungen wurden die Papierbasierten Mikrofluidik-Analysesysteme (μ PADs) eingesetzt. Hier konnte beobachtet werden, dass Analyten aus einer Lösung auf Grund ihrer hohen Affinität zu den Nanopartikeln abgetrennt werden können und es so möglich ist, diese zu analysieren. Zudem konnte das erste Mal die Kopplung von Freisetzungssystemen mit SERS-Messungen gezeigt werden, was einen Zugang zu Analyten ermöglicht, welche nicht SERS-aktiv sind.

Abstract

Rapid tests are widely used analytical methods for obtaining analytical information immediately on site. Different detection methods such as color or fluorescence measurements are commonly used in such tests. Raman scattering is another possible detection method, but for the analysis of compounds in diluted samples the Raman effect is too weak. Therefore, surface enhanced Raman scattering (SERS) is used in this thesis. In SERS, the Raman signal is enhanced by the interaction of the analyte with metal nanoparticles so that low analyte concentrations can be detected.

This thesis focuses mainly on three aspects: reproducibility of SERS signal intensity, interpretation of concentration curves and analysis of sample mixtures. The signal reproducibility was investigated using different deposition methods and measurement systems and the reproducibility of measurements was tested over longer periods of time. It was found that the most stable signal intensity was obtained using a combination of homogeneous deposition (spraying or dropping on paper with hydrophobic barriers) of a nanoparticle suspension on paper and a detection configuration that involves large diameters of both, the laser and the detection spot on the sample. It was shown with a laboratory setup, that comparatively stable measurements are possible with a relative standard deviation of approx. 20 % over a period of approx. 2.5 months.

For the analysis and interpretation of the dependence of the SERS signal intensity on the concentration of the analyte, concentration series of different compounds were measured. The measurement data could be fitted with a Langmuir isotherm and explained with the Langmuir SERS model. For the measured thiol compounds an alternative option for quantification was found: the shift of certain SERS bands in the Raman spectrum as a function of analyte concentration.

For the analysis of compound mixture in solution microfluidic paper-based analytical devices (μ PADs) were used. It was observed that certain analytes which have a high affinity for the nanoparticles can be separated from the solution and thereby analyzed. Furthermore, by combining gating systems and SERS measurements the possibility to detect analytes that are not SERS active with a rapid test was shown for the first time in this thesis.

Inhaltsverzeichnis

1	Motivation und Ziele	8
2	Theorie.....	10
2.1	Raman-Effekt.....	10
2.1.1	Molekulare Grundlagen der Raman-Streuung	10
2.1.2	Intensität der Raman-Streuung.....	14
2.1.3	Frequenzen der Raman-Banden	16
2.2	Oberflächenverstärkte Raman-Streuung (SERS)	17
2.2.1	Elektromagnetischer Mechanismus.....	17
2.2.2	Chemischer Mechanismus.....	21
2.3	Papier als Trägermaterial	22
2.4	Papierbasierte Mikrofluidik-Analysesysteme.....	23
2.5	SERS in der Analytik.....	27
2.5.1	SERS-Substrate	27
2.5.2	Quantifizierung mit SERS.....	31
2.5.3	μ PADs mit SERS-Detektion	33
2.6	Adsorptionsisothermen.....	34
2.6.1	Langmuir- und Henry-Isotherme	35
2.6.2	Erweiterte und weitere Modelle zur Langmuir-Isotherme	37
2.7	Freisetzungssysteme	39
2.8	Formeln und Definitionen für die Auswertung.....	41
3	Experimente.....	43
3.1	Chemikalien und Papiere.....	43
3.2	Nanopartikel-Synthesen.....	44
3.3	Charakterisierungsmethoden	46
3.4	Auftragung von Nanopartikeln auf Papier.....	47
3.5	Herstellung von Testpunkten und μ PADs.....	49
3.6	Raman- und SERS-Proben	50
3.7	Raman- und SERS-Messsysteme	51
3.8	LabVIEW-Programme.....	53
4	Ergebnisse und Diskussion.....	56
4.1	Auftragung und Detektion	56

4.1.1	Nanopartikelsuspensionen für Auftropfen ohne hydrophobe Barrieren und Sprühen	56
4.1.2	SERS-Papierproben mit Auftropfen ohne hydrophobe Barrieren und Sprühen	60
4.1.3	SERS-Messungen der Auftropf- und Sprühproben ohne hydrophobe Barrieren	65
4.1.4	SERS-Papierproben gedruckt ohne hydrophobe Barrieren.....	72
4.2	Messungen zur Reproduzierbarkeit auf Testpunkten	75
4.2.1	Präparation, Messaufbau, Nanopartikel für Testpunkte und μ PADs.....	75
4.2.2	Einflussfaktoren auf die SERS-Signalintensität.....	81
4.2.3	Analyten für die Messungen zur Reproduzierbarkeit und das Modellsystem ...	91
4.2.4	Reproduzierbarkeit von SERS-Messungen auf Testpunkten	97
4.3	Konzentrationsbestimmung	106
4.3.1	Messung der SERS-Intensitäts-Konzentrationskurven mehrerer Analyten	106
4.3.2	Langmuir-SERS-Modell	119
4.3.3	Vergleich von Modellen für die Auswertung von SERS-Intensitäts-Konzentrationskurven.....	122
4.4	Konzentrationsabhängige Veränderung der Raman-Verschiebung	126
4.5	Auftrennung von Proben auf μ PADs.....	141
4.5.1	Chromatographisches Verhalten verschiedener Analyten	141
4.5.2	Modellsystem auf μ PADs.....	148
4.5.3	Freisetzungssysteme mit SERS-Messungen	152
5	Zusammenfassung & Ausblick.....	156
6	Anhang.....	160
6.1	Abkürzungen	160
6.2	LabVIEW wichtige Blockdiagramme	161
6.3	Selbsterstellungserklärung.....	163
7	Literaturverzeichnis	164

1 Motivation und Ziele

In den letzten Jahren hat sich immer mehr gezeigt, dass es wichtig ist, Proben am Ort des Geschehens schnell und zuverlässig zu analysieren, wo zumeist keine Laboratorien und Fachpersonal vorhanden sind. Damit auch an solchen Orten aussagekräftige Messungen durchgeführt werden können, werden direkt vor Ort einsetzbare Schnelltests genutzt. Eines der bekanntesten Beispiele für einen Schnelltest in der Chemie ist die Messung des pH-Wertes mit pH-Teststreifen. Mit ihm können auch ungeschulte Personen sehr schnell und leicht den pH-Wert einer Probe bestimmen. Das ist z.B. interessant für die schnelle Untersuchung von Gewässern.[1] Andere Beispiele, wo Vor-Ort-Methoden eingesetzt werden könnten, sind z.B. bei der Hausdiagnostik, bei der Diagnostik in Entwicklungsländern oder bei der Überwachung von Lebensmitteln direkt bei der Ernte, denn diese Art von Messmethoden sind nicht nur schnell und einfach in der Handhabung, sondern sie sind auch portabel und zumeist preisgünstig.[1]

Im Rahmen dieser Arbeit soll eine Analysenmethode untersucht werden, die für Schnelltestmessungen geeignet sein könnte. An diese Methode werden die folgenden Anforderungen gestellt: sie soll schnell, einfach in der Handhabung, markierungsfrei („Label-free“) und günstig sein, und die Identifikation und Quantifizierung von Analyten in Matrices ermöglichen. Um all diese Anforderungen von der Grundidee her zu erfüllen, sollen zwei Techniken kombiniert werden. Zur Detektion der Analyten soll ein Spezialfall der Raman-Streuung, die Oberflächenverstärkte Raman-Streuung (surface enhanced Raman scattering, SERS) verwendet werden und zur Probenpräparation sollen μ PADs (englisch: microfluidic paper-based analytical device = Papier-basierte Mikrofluidik-Analysesysteme) zum Einsatz kommen.[2, 3]

Die Raman-Spektroskopie ermöglicht es, verschiedenste Raman-aktive Analyten über ihre charakteristischen Raman-Spektren zu identifizieren. Zudem ist es möglich, über die Signalintensitäten der Raman-Banden eine Quantifizierung des Analyten durchzuführen; diese Messungen könnten dabei mit verschiedensten Raman-Messgeräten durchgeführt werden. Ein Problem dabei ist, dass der Raman-Effekt nur bei hohen Konzentrationen von Analyten genügend intensive Signale gibt, die ausgewertet werden können. Da aber bei überwachenden, diagnostischen oder gesetzlichen Nachweisen von Substanzen die Konzentrationsbereiche oft sehr gering sind, wird eine Methode benötigt, die über eine sehr niedrige Nachweisgrenze verfügt. Daher sollen in dieser Arbeit keine normalen Raman-Messungen durchgeführt werden, sondern es sollen sogenannte SERS-Messungen gemacht werden.[4] Der Vorteil dieser speziellen Raman-Messemethode ist eine Verstärkung des Raman-Signals um mehrere Grö-

Benordnungen, was in bestimmten Fällen bis hin zur Einzelmolekülspektroskopie gesteigert werden kann.[5, 6] Daher sollten sich mit dieser Methode vom Ansatz her ausreichend niedrige Konzentrationen nachweisen lassen. Diese Signalverstärkung hat aber auch Nachteile. So ist diese Verstärkung von vielen Faktoren abhängig und führt zu Problemen in der Reproduzierbarkeit der Signalintensität und der Bestimmung einer Quantifizierungsfunktion, welche nicht wie bei der normalen Raman-Streuung einer linearen Korrelation zwischen Signalintensität und Konzentration entspricht. Als Analyten sollen hier kleine organische Moleküle betrachtet werden.

Ein weiterer Punkt, der untersucht werden soll, ist die Kombination der SERS-Messungen mit μ PADs. Dabei sollen die einfache Handhabung, die Portabilität und der meist günstige Preis der μ PADs mit den Vorteilen der SERS-Messmethode kombiniert werden. Dies dient dazu um nicht nur Einzelkomponentenproben zu analysieren, sondern auch Mischungen von Analyten und/oder Analyten in Matrices bestimmen zu können. Dabei ist bei der Präparation der Proben die Hauptaufgabe der μ PADs die Auftrennung der Probe in verschiedene Fraktionen und/oder Komponenten.

2 Theorie

2.1 Raman-Effekt

Der Raman-Effekt wurde im Jahre 1923 von dem Physiker Adolf Smekal [7] vorausgesagt und fünf Jahre später von zwei unabhängigen Forschergruppen um C.V. Raman [8, 9] und L. Mandelstam [10] beobachtet. Der Name Raman-Effekt oder Raman-Streuung geht dabei auf den indischen Forscher Sir Chandrasekhara Venkata Raman zurück, welcher als erster die Beobachtung der inelastischen Streuung von Licht an Materie veröffentlichte.[8] Der beobachtete Energieaustausch zwischen Licht und Materie entspricht dabei der Energiedifferenz von Übergängen zwischen Rotationsschwingungszuständen, welche Raman-aktiv sind. In den weiteren Betrachtungen beschränke ich mich auf Übergänge zwischen Schwingungszuständen von Molekülen, da nur diese in der vorliegenden Arbeit betrachtet wurden.

2.1.1 Molekulare Grundlagen der Raman-Streuung

Die Prozesse der Raman-Streuung lassen sich sowohl klassisch [11] als auch quantenmechanisch [12] herleiten. Hier soll nur die klassische Betrachtung dargestellt werden. Der Ausgangspunkt für die Berechnung der Effekte bei der Raman-Streuung ist die Interaktion von elektromagnetischer Strahlung (Licht) mit einem Molekül. Hier wird angenommen, dass die Frequenz des Lichtes wesentlich größer ist als die Energiedifferenz zwischen zwei Schwingungsniveaus eines elektronischen Zustandes aber kleiner als die Energie zur Ionisation des Moleküls. Dabei erzeugt der elektrische Teil der elektromagnetischen Strahlung ein induziertes Dipolmoment $\vec{\mu}_{ind}(t)$ im Molekül. Dieses induzierte Dipolmoment ist dabei abhängig von zwei Faktoren, der Polarisierbarkeit $\hat{\alpha}$ des Moleküls und dem elektrischen Feldanteil des eingestrahnten Lichtes $\vec{E}(t)$ (Gl. 1).[11, 12]

$$\text{Gl. 1} \quad \vec{\mu}_{ind}(t) = \hat{\alpha} \cdot \vec{E}(t)$$

Die Gl. 1 stellt dabei den allgemeinen Fall dar, in dem $\hat{\alpha}$ ein Tensor zweiter Ordnung ist und das elektrische Feld des einfallenden Lichtes ein Vektor ($\vec{E}(t)$) ist. Mit der Vereinfachung einer isotropen Polarisierbarkeit des Moleküls reduziert sich die Polarisierbarkeit auf einen skalaren Wert α und das gleiche gilt für den elektrischen Feldvektor $E(t)$ (Gl. 2).[11, 12]

$$\text{Gl. 2} \quad \mu_{ind}(t) = \alpha \cdot E(t)$$

Das elektrische Feld lässt sich ausgehend von den vorherigen Einschränkungen einfach durch eine planare harmonische Welle darstellen (Gl. 3).[11, 12]

$$\text{Gl. 3} \quad E(t) = E_L \csc(2\pi\nu_L t)$$

Dabei ist E_L die maximale Amplitude der elektrischen planaren Welle, ν_L die Frequenz mit der die harmonische Welle oszilliert und t der Zeitpunkt an dem das elektrische Feld bestimmt wird. Das oszillierende elektrische Feld verursacht eine dem Feld entgegen gerichtete Auslenkung der Atomrümpfe im Molekül, was zu einer Veränderung der Polarisierbarkeit des Moleküls führt. Für kleine Auslenkungen der Atomrümpfe gegen ihre Gleichgewichtslage (Q_0) kann die Polarisierbarkeit als Taylorreihe um diese Gleichgewichtslage der Atomrümpfe entwickelt werden (Gl. 4).[11, 12]

$$\text{Gl. 4} \quad \alpha(Q_S) = \alpha_0 + \left(\frac{\delta\alpha}{\delta Q_S}\right)_0 Q_S + \dots$$

In Gl. 4 ist $\alpha_0 = \alpha(Q_0)$ die Polarisierbarkeit des Moleküls in der Gleichgewichtslage der Atomrümpfe, $\left(\frac{\delta\alpha}{\delta Q_S}\right)_0$ ist die Veränderung der Polarisierbarkeit des Moleküls bei einer jeweiligen Normalschwingung des Moleküls an der Gleichgewichtslage der Atomrümpfe und $Q_S = Q_S(t)$ ist die zeitabhängige Normalkoordinate jener Normalschwingung des Moleküls. Die zeitabhängige Normalkoordinate kann analog der zeitlichen Veränderung des elektrischen Feldes, durch eine harmonische Schwingung, dargestellt werden (Gl. 5).[11, 12]

$$\text{Gl. 5} \quad Q_S(t) = Q_S^0 \csc(2\pi\nu_S t)$$

Q_S^0 stellt dabei die maximale Auslenkung der Atomrümpfe der jeweiligen Normalschwingung gegen ihre Gleichgewichtslage dar, ν_S ist die Frequenz der jeweiligen Normalschwingung des Moleküls und t der Zeitpunkt an dem die Auslenkung bestimmt wird. Wird dann Gl. 5 in Gl. 4 eingesetzt und die Reihenentwicklung nach dem zweiten Term abgebrochen, kann die resultierende Gl. 4 und Gl. 3 in Gl. 2 eingesetzt werden und es ergibt sich die Gl. 6 für das induzierte Dipolmoment. Durch Umformen der Gl. 6 wird die Gl. 7 erhalten.[11, 12]

$$\text{Gl. 6} \quad \mu_{ind}(t) = \alpha_0 E_L \cos(2\pi\nu_L t) + \left(\frac{\delta\alpha}{\delta Q_S}\right)_0 Q_S^0 \cos(2\pi\nu_S t) E_L \cos(2\pi\nu_L t)$$

Gl. 7

$$\mu_{ind}(t) = \alpha_0 E_L \cos(2\pi\nu_L t) + \frac{E_L Q_S^0}{2} \left(\frac{\delta\alpha}{\delta Q_S} \right)_0 \cos(2\pi\{\nu_L + \nu_S\}t) + \frac{E_L Q_S^0}{2} \left(\frac{\delta\alpha}{\delta Q_S} \right)_0 \cos(2\pi\{\nu_L - \nu_S\}t)$$

Rayleigh S. anti – Stokes R. – S. Stokes Raman – Streuung

Die Gl. 7 zeigt, welche Effekte bei der Streuung von Licht an Molekülen beobachtet werden können, wenn die Schwingungen der Moleküle betrachtet werden. Gl. 7 ist eine Summe aus drei Termen, wovon der erste die elastische Streuung oder Rayleigh-Streuung des Lichtes darstellt. Der zweite und dritte Term der Summe stellen die inelastische Streuung dar, auch Raman-Streuung genannt. Die Rayleigh-Streuung hängt nur von der Polarisierbarkeit des Moleküls in der Gleichgewichtslage der Atomrümpfe und dem einfallenden Licht ab (Abbildung 1 B). Daher zeigen alle Moleküle die Rayleigh-Streuung. Für die Raman-Streuung werden zwei Summenterme erhalten, wobei beide Terme von der Veränderung der Polarisierbarkeit, der Amplitude des elektrischen Teils des einfallenden Lichtes und der Amplitude der jeweiligen Normalschwingung abhängig sind. Somit wird die Raman-Streuung nur dann beobachtet, wenn sich die Polarisierbarkeit des Moleküls während einer Normalschwingung an der Gleichgewichtslage verändert ($\left(\frac{\delta\alpha}{\delta Q_S}\right)_0 \neq 0$). Diese Voraussetzung wird als Auswahlregel für die Raman-Streuung bezeichnet. Der Unterschied zwischen den beiden Raman-Termen liegt im Energieaustausch zwischen dem eingestrahnten Licht und dem Molekül. Beim zweiten Summenterm in Gl. 7 überträgt das Molekül die Energie eines schwingungsangeregten Zustandes auf das emittierte Lichtphoton und geht in einen energieärmeren Schwingungszustand über (Abbildung 1 C). Dieser Vorgang wird als anti-Stokes-Raman-Streuung bezeichnet. Hingegen nimmt das Molekül im dritten Summenterm der Gl. 7 einen Teil der Energie des einfallenden Lichtes auf und wird von einem energieärmeren Schwingungszustand in einen schwingungsangeregten Zustand überführt (Abbildung 1 A). Dieser Prozess wird als Stokes-Raman-Streuung bezeichnet. Die übertragene Energie in beiden Raman-Prozessen entspricht dabei dem Unterschied zwischen zwei Schwingungszuständen einer Normalschwingung eines elektronischen Niveaus eines Moleküls.

Die Prozesse der hier betrachteten Lichtstreuung können neben der Darstellung als Formel ebenso als Energieniveau-Diagramm (Jablonski-Diagramm) dargestellt werden (Abbildung 1). Das Energieniveau-Diagramm zeigt verschiedene energetische Zustände eines Moleküls. S_i sind dabei die elektronischen Zustände des Moleküls und ν_{i-S} die Schwingungszustände einer Normalschwingung des jeweiligen elektronischen Zustandes des Moleküls. Die grau einge-

gezeichneten virtuellen Zustände im Diagramm stellen keine realen energetischen Zustände des Moleküls dar, sondern sie repräsentieren die Interaktionen des Lichtes mit einem Molekül bei der Lichtstreuung und dienen als Erklärungshilfe. Die ersten drei Prozesse von A bis C stellen den Normalfall der Lichtstreuung dar. Ein Sonderfall der Lichtstreuung ist zu beobachten (Abbildung 1 D), wenn die einfallende Lichtstrahlung eine Wellenlänge ($\lambda_L = \frac{c}{\nu_L}$) aufweist, die einem elektronischen Übergang im Molekül entspricht. In solch einem Fall, kann resonante Raman-Streuung beobachtet werden. Der Vorteil der resonanten Raman-Streuung ist eine Verstärkung des Raman-Signals. Der fünfte Prozess, der in dem Diagramm aufgeführt ist, ist keine Lichtstreuung. Es handelt sich dabei um den Prozess der Absorption mit anschließender Fluoreszenz (Abbildung 1 E).[11-13]

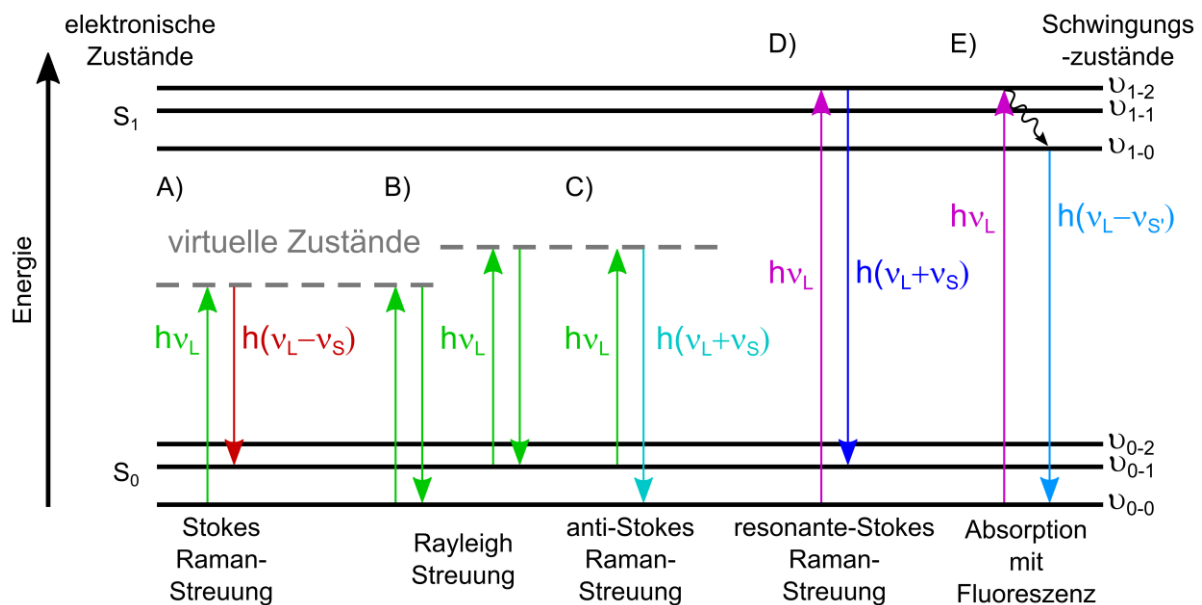


Abbildung 1 Darstellung eines Jablonski Diagramms mit den Streuprozessen bei Schwingungen und dem Prozess der Fluoreszenz eines Moleküls. Es ist ein anharmonisches Potenzial für die Schwingungszustände dargestellt. ν_L ist die Frequenz des eingestrahlten Lichtes, ν_S ist die Frequenz einer Normalschwingung (= Übergangsfrequenz von einem auf ein anderes Schwingungsniveau) und ν_S ist die Frequenz der Stokes-Verschiebung (= hier die Differenz zwischen Absorptions- und Fluoreszenzfrequenz). [11-13]

Abbildung 2 90° Raman-Messaufbau, wobei die Achsen die Laborraumrichtungen darstellen.[12]

μ_{AB} ist die reduzierte Masse des Moleküls, $\bar{\alpha}'$ ist die mittlere Polarisierbarkeit, γ' ist die Anisotropie, h ist das Plancksche Wirkungsquantum, ν_{10} ist die Schwingungsfrequenz der Streckschwingung des Moleküls (= Übergangsfrequenz von Grundniveau auf das erste angeregte Schwingungsniveau der Streckschwingung), k ist die Boltzmann-Konstante und T die Temperatur. Die Gl. 8 kann auch noch in einer weiteren Schreibweise dargestellt werden, welche den differentiellen Streuquerschnitt β (Gl. 11) enthält (Gl. 12). Der differentielle Streuquerschnitt ist eine von dem Molekül, der einfallenden Lichtfrequenz und der Messgeometrie abhängige Konstante.[11, 12]

$$\text{Gl. 11} \quad \beta = \frac{d\sigma}{d\Omega} = \frac{(\nu_L - \nu_S)^4}{|\nu_S|} C$$

$$\text{Gl. 12} \quad I_S^{St} = \beta N_0 I_L$$

Die so erhaltene Gl. 12 ist nur von dem differentiellen Streuquerschnitt (β), der Anzahl der Raman-streuenden Moleküle ($N_0 = NV_P/q_S$) und der einfallenden Lichtintensität (I_L) abhängig. Damit hängt die Intensität bei gegebenem differentiellen Streuquerschnitt und Lichtintensität nur noch von der Stoffmenge (oder Konzentration) ab. So ergibt sich ein linearer Zusammenhang zwischen der Anzahl Raman-streuender Moleküle und der Raman-Signalintensität (Abbildung 3). Bei der resonanten Raman-Streuung ist der differentielle Streuquerschnitt größer als bei der normalen Raman-Streuung, womit auch eine höhere Raman-Intensität beobachtet wird.[12]

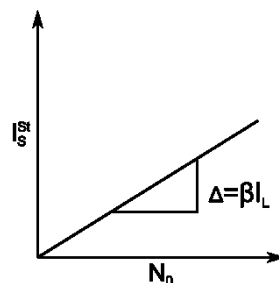


Abbildung 3 Auftragung der Raman-Intensität (I_S^{St}) gegen die Anzahl an streuenden Molekülen (N_0) mit der entsprechenden Steigung (βI_L).

2.1.3 Frequenzen der Raman-Banden

Hier wird auf das Ergebnis der quantenmechanischen Herleitung der Schwingungsenergie eines zweiatomigen Moleküls eingegangen (Gl. 13). Eine ausführliche Herleitung ist in der Literatur zu finden.[12, 14]

$$\text{Gl. 13} \quad E = h\nu \left(v + \frac{1}{2} \right) \quad (v \in \mathbb{N})$$

Hier ist E die Schwingungsenergie des Moleküls im jeweiligen Quantenzustand bei der Nutzung eines harmonischen Potentials, h das Plancksche Wirkungsquantum, ν die Schwingungsfrequenz und v die Schwingungsquantenzahl. Die nach diesem Modell gemessene Schwingungsenergie ist die Differenz zweier Schwingungsenergiezustände, die sich nur um $v = \pm 1$ unterscheiden. Damit ergibt sich vom Betrag her nur ein Energiewert für die Schwingung Gl. 14.[12, 14]

$$\text{Gl. 14} \quad |\Delta E| = h\nu$$

Die beobachtete Energieverschiebung des einfallenden Lichtes nach der Raman-Streuung ist ein Produkt aus dem Planckschen Wirkungsquantum und der Schwingungsfrequenz des zweiatomigen Moleküls. Die Frequenz der Verschiebung ergibt sich dabei aus der Gl. 15. Diese hängt von der Kraftkonstanten (k) der Bindung und der reduzierten Masse (μ) des zweiatomigen Moleküls ab.[12, 14]

$$\text{Gl. 15} \quad \nu = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}}$$

Für ein mehratomiges Molekül ergibt sich auf Grund der Anzahl an Atomen und ihrer Freiheitsgrade, dass ein solches Molekül $S = 3n - 5$ oder 6 ($n \in \mathbb{N}^*$, 5 linear, 6 nicht linear) Normalschwingungen hat. Aus der Herleitung für die Gesamtschwingungsenergie eines mehratomigen Moleküls ergibt sich ein annähernd gleicher Ausdruck für dessen Schwingungsenergie, nur dass hierbei über alle Normalschwingungen des Moleküls summiert wird. Damit ergeben sich die verschiedenen Energieverschiebungen bei der Raman-Streuung eines mehratomigen Moleküls aus den Differenzen der jeweiligen Schwingungsenergiezustände jeweils einer Normalschwingung, die in der harmonischen Näherung nur vom Planckschen Wirkungsquantum und der Schwingungsfrequenz der betrachteten Normalschwingung abhängen. Diese Frequenz ist dabei abhängig von der Kraftkonstanten und der reduzierten Masse

der jeweiligen Normalschwingung (Gl. 16). Für eine realere Beschreibung der Schwingung wird anstelle des harmonischen Oszillators ein realistischeres Potenzial verwendet, z.B. das Morse-Potential.[12, 14]

$$\text{Gl. 16} \quad v_S = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k_S}{\mu_S}}$$

2.2 Oberflächenverstärkte Raman-Streuung (SERS)

Die Oberflächenverstärkte Raman-Streuung (englisch: **surface-enhanced Raman scattering** = SERS) führt zu einer Verstärkung des Raman-Signals von Molekülen. Erstmals wurde dieser Effekt von Fleischmann et al. an Silberelektroden beobachtet und 1974 publiziert.[15] Drei Jahre später beschrieben zwei Gruppen zeitgleich den SERS-Effekt über unterschiedliche Mechanismen.[16, 17] Jeanmaire und Van Duyne beschrieben den SERS-Effekt über einen elektromagnetischen Mechanismus (englisch: **electromagnetic** = EM) und Albrecht und Creighton beschrieben ihn über einen chemischen Mechanismus (englisch: **chemical** = CE).[16, 17] Heute ist allgemein akzeptiert, dass eine Kombination beider Mechanismen für den SERS-Effekt verantwortlich ist. Dabei weist der EM-Mechanismus meistens den größeren Verstärkungseffekt (Verstärkungsfaktor; englisch: **enhancement factor** = EF~ 10^4 - 10^7) im Vergleich zum CE Mechanismus (EF~ 10 - 10^2) auf.[4, 18] Einen Einfluss auf den SERS-Effekt haben sowohl das eingestrahlte Licht, die vorhandenen Moleküle (Analyten), die eingesetzten Nanomaterialien als auch das umgebende Medium. In den folgenden Betrachtungen wird nur auf metallische **Nanopartikel** (= NP) eingegangen, da nur diese in der vorliegenden Arbeit untersucht wurden. Hier sollen nur ausgewählte Formeln für den SERS-Effekt vorgestellt werden und ihre Verbindungen untereinander und ihre Bedeutungen für den SERS-Effekt erläutert werden.

2.2.1 Elektromagnetischer Mechanismus

In erster Näherung wird beim EM-Mechanismus nur die Interaktion von einem einzelnen metallischen Nanopartikel, dem einfallenden Licht und einem Molekül betrachtet. Das elektrische Feld des eingestrahnten Lichtes bewirkt eine Auslenkung der delokalisierten Elektronen des Valenzbandes des Nanopartikels wie in Abbildung 4 dargestellt. Die daraus resultierende Ladungstrennung wird als bipolare lokalisierte Oberflächenplasmonenresonanz (englisch: **localized surface plasmon resonance**) bezeichnet. Diese führt zu einem induzierten Dipolmoment im Nanopartikel, welches selbst ein elektrisches Feld emittieren kann.[19, 20]

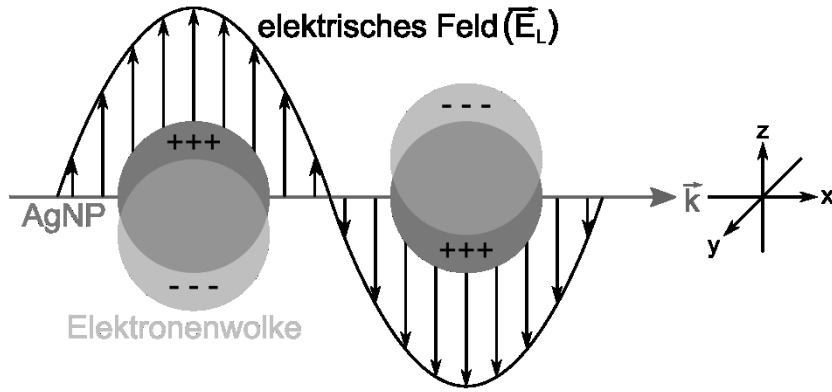


Abbildung 4 Das elektrische Feld (\vec{E}_L) des einfallenden Lichtes führt zu einer Auslenkung der Valenzelektronenwolke im Nanopartikel. \vec{k} ist der Wellenvektor des einfallenden Lichtes.
[4, 21]

Wird angenommen, dass es sich um einen sphärischen Nanopartikel mit dem Radius r_{NP} handelt, welcher wesentlich kleiner ist als die Wellenlänge des eingestrahlteten Lichtes ($\lambda_L \rightarrow r_{NP}/\lambda_L < 0,1$), kann von einem einheitlichen und zeitlich konstanten elektrischen Feld (\vec{E}_L) um den Nanopartikel herum ausgegangen werden.[4, 20] Wird weiter angenommen, dass sich der Nanopartikel in einem Medium mit der Dielektrizitätskonstante ϵ_M befindet und das Partikelmaterial die Dielektrizitätskonstante ϵ_{NP} besitzt, welche nicht von der Größe des Partikels abhängt, kann von einer quasi-statischen Näherung gesprochen werden. Somit reduzieren sich die Maxwell-Gleichungen zur Berechnung des induzierten elektrischen Feldes auf elektrostatische Gleichungen. Wird das Nanopartikelmaterial als leitfähig angenommen und dass der Partikel eine Nettoladungsdichte von Null hat, so gehen die Maxwell-Gleichungen in die Laplace-Gleichungen über. Aus diesen Gleichungen lässt sich in erster Näherung das elektrische Feld außerhalb des Nanopartikels (\vec{E}_{out}) berechnen (Gl. 17), wobei der Wellenvektor (\vec{k}) des eingestrahlteten Lichtes entlang der x-Achse ausgerichtet ist und Moleküle vernachlässigt werden, die nahe der Oberfläche das elektrische Feld beeinflussen.[4, 20-22]

$$\text{Gl. 17} \quad \vec{E}_{out} = E_L \vec{z} - \alpha_{NP} E_L \left[\frac{\vec{z}}{r^3} - \frac{3z}{r^5} (x\vec{x} + y\vec{y} + z\vec{z}) \right]$$

Der erste Term der Gl. 17 steht für das elektrische Feld des einfallenden Lichtes und der zweite Term steht für das Feld, welches durch das induzierte Dipolmoment des Partikels erzeugt wird. E_L ist die maximale Amplitude des einfallenden Lichtes, α_{NP} ist die Polarisierbarkeit des Metalls des Nanopartikels und $\vec{x}/\vec{y}/\vec{z}$ sind die kartesischen Einheitsvektoren. $x/y/z$ sind die kartesischen Koordinaten und r ist der Radialabstand an dem das elektrische Feld be-

stimmt wird.[20, 21] Die Polarisierbarkeit eines sphärischen Partikels in Gl. 17 ist durch die Gl. 18 mit der Gl. 19 gegeben. [4, 20, 22]

$$\text{Gl. 18} \quad \alpha_{NP} = g r_{NP}^3$$

$$\text{Gl. 19} \quad g = \frac{\varepsilon_{NP} - \varepsilon_M}{\varepsilon_{NP} + 2\varepsilon_M}$$

Danach ist die Polarisierbarkeit eines Nanopartikels abhängig von dem g -Faktor und dem Radius des sphärischen Nanopartikels (r_{NP} ; Gl. 18). Der g -Faktor ist seinerseits abhängig von der Dielektrizitätskonstante ε_M des umgebenden Mediums und der Dielektrizitätskonstante ε_{NP} des Nanopartikelmaterials. Somit ist das äußere elektrische Feld direkt von der Dielektrizitätskonstante des umgebenden Mediums abhängig.[4, 20]

Die SERS-Intensität ist direkt proportional vom Betragsquadrat des äußeren elektrischen Feldes (\vec{E}_{out}) abhängig, ebenso wie die normale Raman-Streuung (Gl. 12 & Gl. 9). Wird das Betragsquadrat des resultierenden äußeren elektrischen Feldes bestimmt, kann es zur Berechnung der SERS-Intensität verwendet werden. Für ein Molekül, welches sich direkt auf der Oberfläche eines Nanopartikels befindet, ist der Radialabstand des Moleküls gleich dem Nanopartikelradius ($r_{NP} = r$) und Gl. 17 lässt sich in Gl. 20 umformen (Polarkoordinaten).[4, 20]

$$\text{Gl. 20} \quad |\vec{E}_{out}|^2 = E_L^2 [1 - |g|^2 + 3 \cos^2 \theta (2\text{Re}(g) + |g|^2)]$$

θ ist der Winkel zwischen dem eingestrahltten elektrischen Feld und dem Radialvektor des Moleküls auf der Nanopartikeloberfläche. Bei großen g -Werten ($|g| \gg 1$) kann die Gl. 20 näherungsweise als Gl. 21 dargestellt werden.[4, 20]

$$\text{Gl. 21} \quad |\vec{E}_{out}|^2 = E_L^2 |\vec{g}|^2 [1 + 3 \cos^2 \theta]$$

Die maximale Feld-Intensität im konkreten Fall wird somit bei θ gleich 0° oder 180° zum eingestrahltten elektrischen Feld beobachtet ($|\vec{E}_{out}|^2 = E_L^2 |\vec{g}|^2 4$). Das äußere elektrische Feld um den Nanopartikel herum bewirkt dann zwei Verstärkungen; zum einen wird das einfallende elektrische Feld verstärkt (einfallendes Licht; Feldverstärkungsfaktor: $|A(v_L)| = |E_{out}(v_L)|/|E_L|$) und zum anderen wird das emittierte elektrische Feld (Raman-Streuung) des Moleküls verstärkt (Feldverstärkungsfaktor: $|A(v_L - v_S)| = |E_{out}(v_L - v_S)|/|E_L|$). Die so

erhaltenen Feldverstärkungsfaktoren werden meist als EM-Verstärkungsfaktor (EF_{EM} ; Gl. 22) zusammengefasst. [4, 18-20]

$$\text{Gl. 22} \quad EF_{EM} = |A(v_L)|^2 |A(v_L - v_S)|^2 = \frac{|E_{out}(v_L)|^2 |E_{out}(v_L - v_S)|^2}{|E_L|^4}$$

Für ein Molekül, das sich auf der Nanopartikeloberfläche befindet und θ gleich 0° oder 180° hat, ergibt sich aus Gl. 22 der EM-Verstärkungsfaktor Gl. 23.[20]

$$\text{Gl. 23} \quad EF_{EM} = 16 |\vec{g}_{(v_L)}|^2 |\vec{g}_{(v_L - v_S)}|^2 = 16 |\vec{g}_L|^2 |\vec{g}_{LS}|^2$$

Gl. 23 zeigt den maximalen EM-Verstärkungsfaktor in diesem Modell. Für den mittleren EM-Verstärkungsfaktor ergibt sich $EF_{EM} = 4 |\vec{g}_L|^2 |\vec{g}_{LS}|^2$. Weiter kann angenommen werden, dass die eingestrahlte Lichtfrequenz (v_L) und emittierte Lichtfrequenz ($v_{emittiert} = v_L - v_S$) näherungsweise gleich sind, da v_L wesentlich größer ist als v_S ($v_L \approx v_L - v_S$ da $v_L \gg v_S$). So ergibt sich eine Verstärkung von $|A(v_L)|^4$, die in der Literatur auch als E^4 Verstärkung bezeichnet wird.[4]

Bisher wurde die Interaktion von einem Molekül und einem Nanopartikel betrachtet. Für den allgemeinen Fall der Interaktion von mehreren Molekülen einer Molekülart und mehreren Nanopartikel kann die SERS-Stokes-Intensität ($I(SERS)_S^{St}$) einer Normalschwingung in Analogie zu Gl. 12 in Gl. 24 beschrieben werden. Hierbei wird die Gl. 12 mit dem EM-Verstärkungsfaktor (EF_{EM}) multipliziert und der differentielle Streuquerschnitt durch einen spezifischen Raman-Streuquerschnitt der adsorbierten Moleküle (σ_{ads}) ersetzt sowie mit N_0 die Anzahl der Moleküle, die mit dem Nanomaterial interagieren, bezeichnet. I_L steht für die Lichtintensität des eingestrahlten Lichtes.[18]

$$\text{Gl. 24} \quad I(SERS)_S^{St} = \sigma_{ads} N_0 I_L EF_{EM} = \sigma_{ads} N_0 I_L |A(v_L)|^2 |A(v_L - v_S)|^2$$

Dabei gilt die Annahme, dass die Nanopartikel alle sphärisch, von gleicher Größe, voneinander hinreichend weit entfernt sind und keine Beeinflussung ihrer EM-Verstärkungen untereinander zeigen. Damit kann der mittlere EM-Verstärkungsfaktor nach Gl. 23 in der Gl. 24 genutzt werden. Wird in Gl. 24 die E^4 Näherung eingeführt und Gl. 17 und Gl. 22 betrachtet so zeigt sich, dass die $I(SERS)_S^{St}$ eine genäherte direkte Radialabstandsabhängigkeit von r^{-12} hat (Gl. 25).[4, 19]

Gl. 25
$$I(\text{SERS})_S^{St} \propto \frac{1}{r^{12}}$$

Befinden sich die Nanopartikel hingegen dicht beieinander, so beeinflussen sich die elektromagnetischen Felder der Nanopartikel und es kommt zwischen den Partikeln zu einem starken Anstieg des elektromagnetischen Feldes. Dieses Phänomen wird als „Hot Spot“ bezeichnet. Hot Spots werden aber auch bei einzelnen Nanopartikeln beobachtet, wenn diese z.B. scharfe Kanten oder Spitzen aufweisen.[19] Durch Ausnutzung der Hot Spots ist es möglich sogar Einzelmolekülspektroskopie mit SERS zu realisieren. Der Effekt führt aber auch zu Problemen bei der Quantifizierung von Molekülen, da stark unterschiedliche EF_{EM} in einer realen Probe auftreten können.[5, 6, 18, 23]

2.2.2 Chemischer Mechanismus

Als chemischer Mechanismus werden alle Verstärkungen bezeichnet, die nicht über den EM-Mechanismus erklärt werden können. Bei allen diesen unterschiedlichen Effekten sind die Moleküle auf der Oberfläche des Nanopartikels adsorbiert. Es werden Effekte unterschieden, bei denen die Molekülorbitale und die Orbitale der Atome der Nanopartikeloberfläche überlappen, von solchen, bei denen kein Überlapp der Orbitale beobachtet wird.[18-20, 24, 25]

Der am ausführlichsten untersuchte Interaktionsmechanismus ist die Bildung von Ladungstransfer- (Charge Transfer oder CT) Komplexen zwischen Molekülen und Atomen der Nanopartikeloberfläche. Dies führt zu einer Veränderung der Polarisierbarkeit des Moleküls, zur Verschiebung und/oder Verbreiterung der elektronischen Zustände oder zu neuen elektronischen Zuständen des Moleküls. Die so veränderten oder neu entstandenen elektronischen Zustände können in einem Energiebereich liegen, der nahe oder gleich der eingestrahlten Lichtwellenlänge ist, was einer resonanten Anregung entspricht. Eine resonante Raman-Streuung von Licht an Molekülen führt zu einer Vergrößerung des Streuquerschnittes und somit zu einer Verstärkung des Raman-Signals. Daher führt die chemische Verstärkung zu einem veränderten Streuquerschnitt bei SERS-Messungen. Der hier genutzte Streuquerschnitt wird als Streuquerschnitt für die adsorbierten Moleküle (σ_{ads}) bezeichnet und ist bereits in Gl. 24 dargestellt worden.[18-20, 24, 25]

Damit hängt die SERS-Intensität bei gegebener Messgeometrie, Lichtintensität und Umgebungsmedium von dem jeweiligen Adsorptions-Streuquerschnitt, dem jeweiligen EM-Verstärkungsfaktor und der Anzahl der interagierenden Moleküle ab.[18]

2.3 Papier als Trägermaterial

Es gibt verschiedenste Arten von Papieren, die alle unterschiedliche Eigenschaften aufweisen und für die verschiedensten Anwendungen genutzt werden, z.B. für Informationsverbreitung (Buch, Zeitung) oder in der Analytik (Filtration, Papier-Chromatographie). Hier soll nur auf zwei Papierarten kurz eingegangen werden und ihr allgemeiner Aufbau dargestellt werden. Bei den beiden Papierarten handelt es sich um Zellulose- und Glasfaserpapier. Beide Papiere sind dreidimensionale Netzwerke, die aus ihren jeweiligen Fasern aufgebaut sind.[26]

Zellulosepapier besteht aus natürlichen und/oder chemisch modifizierten Zellulosefasern, welche noch mit Zusatzstoffen versehen sein können. Die Zellulosefasern des Papiers weisen eine bevorzugte Ausrichtung ihrer Länge horizontal zur Papierfläche auf und haben ansonsten eine willkürliche Richtungsorientierung. Diese willkürliche Orientierung in der Papierebene führt dazu, dass sich die Fasern kreuzen und sich Poren von unterschiedlicher Größe bilden. Diese Netzwerkstruktur beeinflusst auch die mechanische Belastbarkeit des Papiers. Diese ist aber vor allem von den Bindungskräften der einzelnen Fasern untereinander und der Stabilität der Fasern selbst abhängig. Diese Eigenschaften ergeben sich aus der chemischen Struktur der Fasern. Zellulosefasern bestehen aus linearen Ketten von Polysacchariden, die inter- und intramolekulare Wechselwirkungen wie Wasserstoffbrückenbindungen und Van-der-Waals-Kräfte aufweisen. Die Wasserstoffbrückenbindungen ergeben sich aus den funktionellen Gruppen der Monomer-Einheiten der Zellulose. Diese ist aus β -D-Glukose Monomeren aufgebaut, welche über eine β -1,4-glykosidische Bindung verbunden sind (Abbildung 5).[26, 27]

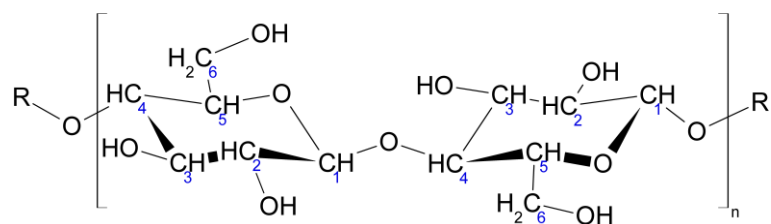


Abbildung 5 Zwei β -D-Glukose Monomere verbunden über eine β -1,4-glycosidische Bindung bilden die Wiederholungseinheit der Polysaccharidketten der Zellulose.[26, 27]

Die inter- und intramolekularen Wasserstoffbrückenbindungen in Zellulose bilden sich vor allem zwischen den C₃-OH, C₅-O-C₁, C₆-O-H und C₂-OH aus und sorgen so für eine lineare Struktur der Fasern und eine Vernetzung der Fasern untereinander. Die Van-der-Waals-Kräfte erzeugen je nach Länge der einzelnen Polymere, welche bei natürlicher Zellulose für Bäume im Bereich von 300 bis 1700 Monomer-Einheiten liegt, eine starke Affinität der linearen Polymere untereinander und tragen damit zur Vernetzung der Fasern bei.[26, 27]

Glasfaserpapiere bestehen aus Glasfasern, die zumeist mit einem Bindemittel (organisch oder anorganisch) zusammengehalten werden, was aber nicht auf alle Glasfaserpapiere zutrifft. Die Glasfasern an sich bestehen aus verschiedensten Glassorten, wie z.B. Quarzglas oder Borosilikatglas. Der Hauptbestandteil eines jeden Glases auf Siliziumbasis ist Siliziumdioxid. Von der chemischen Zusammensetzung ist damit Quarzglas das einfachste, da es aus reinem Siliziumdioxid ohne Zusatzstoffe besteht. Alle anderen Siliziumgläser enthalten weitere Zusatzstoffe, um sie leichter verarbeiten zu können oder ihre Eigenschaften anzupassen. Ähnlich wie bei Zellulosepapier sind auch bei Glasfaserpapieren die Fasern vorwiegend horizontal zur Papierebene ausgerichtet und haben ansonsten meist eine willkürliche Orientierung. Die mechanische Belastbarkeit der Glasfaserpapiere hängt zum einen von den Fasern (Länge, Dicke, Art des Glases, Dichte der Fasern) und zum anderen von den eingesetzten Bindemitteln ab. Beide Papierarten zeigen auf Grund ihrer dichten 3D-Netzwerkstruktur Kapillarflusseigenschaften.[28]

2.4 Papierbasierte Mikrofluidik-Analysesysteme

Die Nutzung von Papier zur Trennung von Stoffgemischen ist schon über einhundertfünfzig Jahre alt. Die ersten Beschreibungen von Auftrennungen von Stoffgemischen sind um 1850 entstanden. Zu diesem Zeitpunkt nutzte man die Effekte der Stofftrennung ohne deren physikalisch chemische Hintergründe zu kennen, zur Herstellung von Kunstwerken. Friedlieb F. Runge veröffentlichte 1855 ein Buch mit selbst hergestellten Papierbildern von Stoffauftrennungen.[29] Erst ca. fünfzig Jahre später wurde die Auftrennung von Stoffgemischen mit Papier und anderen Trennmaterialien zu wissenschaftlichen Analysen genutzt und 1906 von Tswett publiziert.[30] Dann dauerte es ca. weitere 30 Jahre bis die theoretischen Grundlagen und Kenngrößen der allgemeinen Chromatographie entwickelt wurden.[31] Für die Entwicklung der Verteilungschromatographie haben Martin und Synge 1952 den Nobelpreis für Chemie erhalten. In den folgenden Jahrzehnten entwickelte sich zwar auch die Papierchromatographie weiter, aber der Fokus der Forschung lag auf säulenchromatographischen Methoden.

Das zeigt sich auch daran, dass das erste Papier-basierte Mikrofluidik-System schon 1949 von Müller et al. vorgestellt wurde (Abbildung 6 A),[32] aber erst ca. weitere sechzig Jahre verstrichen, bis das erste Papier-basierte Mikrofluidik-Analysesystem (englisch: **microfluidic paper-based analytical device** = μ PAD) vorgestellt wurde (Abbildung 6 B).[32, 33]

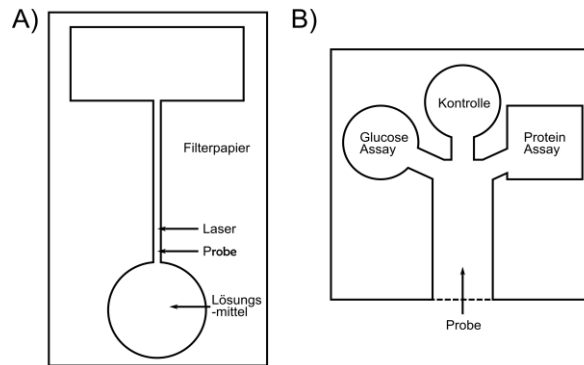


Abbildung 6 Schematische Darstellungen des papierbasierten Mikrofluidik-Systems von Müller (A) und des μ PADs von Martinez (B).[31, 33]

Die Grundidee der μ PADs ist es, eine komplette chemische Analyse von einem oder mehreren Analyten in einer Probe auf einem einzigen Papierteststreifensystem durchzuführen. Das bedeutet, dass die zu untersuchende Probe nach der Probennahme direkt auf das μ PAD aufgetragen werden sollte und dort die Probenvorbereitung (z.B. Probenaufreinigung), die Probenpräparation (z.B. chemische Reaktionen) und die anschließende Detektion in einer Analysezone (z.B. Farbänderung) stattfinden sollten.[3, 34] Dies ist der Unterschied zwischen den Papier-basierten Mikrofluidik-Systemen von Müller und Martinez. Bei Martinez gibt es genau definierte Bereiche, die speziell für die Detektion der Analyten vorbereitet sind und nur dort eine Analysereaktion zeigen (Abbildung 6 B).[32, 33] Mit der Veröffentlichung von Martinez und dem technischen Fortschritt in der Analyse-, Computer-, Foto- und Kommunikationstechnik hat sich das Gebiet der μ PADs in den letzten 10 Jahren sehr schnell weiterentwickelt und ist aktuell weiterhin ein großes Forschungsfeld.[1-3, 34]

Die Vorteile von μ PADs liegen in ihrem geringen Preis, ihrer einfachen Benutzung, ihrer kompakten und leichten Form und ihrer Portabilität. Andererseits haben die μ PADs auch Nachteile. So können bei den meisten von ihnen nur Proben analysiert werden, die nicht in organischen Lösungsmitteln gelöst sind und von denen genügend Probemenge vorhanden ist. Im Vergleich zu Mikrofluidik-Systemen auf Chipbasis (z.B. Polydimethylsiloxan) benötigen die meisten μ PADs größere Probenmengen.[1-3, 34]

Die vier wesentlichen Aspekte in denen sich μ PADs unterscheiden, sind die Art des Papieres, das Material und die Herstellung der hydrophoben Barrieren, die Detektionsmethode und ob es sich um ein 2D oder 3D μ PAD handelt. Bei der Unterscheidung zwischen 2D und 3D μ PADs handelt es sich bei 2D μ PADs um Papiersysteme, die zumeist nur aus einer Lage von Papier bestehen und nur in dieser Papierebene einen horizontalen Fluss haben. Die 3D μ PADs bestehen hingegen aus mehreren Lagen von Papier und zeigen neben dem horizontalen Fluss einen vertikalen Fluss zwischen verschiedenen Papierebenen. Da in dieser Arbeit nur 2D Systeme verwendet werden, wird hier nicht weiter auf die 3D μ PADs eingegangen.[1-3, 34]

Bei den Papierarten, die zur Herstellung von μ PADs verwendet werden, machen zwei Arten den überwiegenden Teil der hergestellten μ PADs aus, Zellulosepapiere und Nitrozellulosepapiere. Eine kleine Einführung in den Aufbau von Zellulosepapieren ist im Kapitel 2.3 gegeben.[1-3, 34]

Die Herstellung und die Materialien für die hydrophoben Barrieren sind sehr vielfältig. Bei den Herstellungsverfahren für die Barrieren wird unterschieden zwischen direkten und indirekten Verfahren. Zu den indirekten Verfahren zählen z.B. Siebdruck, Ätzverfahren oder Fotolithographie. Direkte Verfahren sind hingegen z.B. Tintenstrahldruck, Wachsdruck (Festtintendruck) oder Schreiben. Davon abhängig, welche Barrieren-Herstellungsmethode verwendet wird, muss auch das dementsprechende Barrieren-Material verwendet werden.[2, 3, 34] In Tabelle 1 ist eine Übersicht mit ausgewählten Herstellungsverfahren, deren Materialien und welche Vor- und Nachteile diese Methoden bieten dargestellt.

Tabelle 1 Ausgewählte Herstellungsmethoden, ihr Barriere-Material und Vor- und Nachteile der Methoden.

Herstellungsmethode	Barrieren-Material	Vor- & Nachteile
Fotolithographie [2, 3]	Fotolack (z.B. SU-8)	+ hohe Auflösung μ PADs - teure Apparaturen notwendig
Siebdruck [2, 3, 35]	PDMS, Wachs, Polystyrol	+ einfache Apparaturen für Druck - geringe Auflösung μ PADs - jedes neue μ PAD-Layout benötigt neue Maske
Ätzverfahren [2, 3]	Polystyrol, AKD	+ günstige Herstellung - jedes neue μ PAD-Layout benötigt neue Maske

Tintenstrahldruck [2, 3, 36, 37]	Polystyrol, AKD, Si- licon, MSQ	+ günstige Herstellung in hoher Anzahl - teils Modifikation des Tintenstrahldruckers
Wachsdruk (Festtintendruck) [2, 34, 36-40]	Wachs	+ einfache Herstellung in hoher Stückzahl + Original-Drucker mit Patronen verwendbar - Drucker & Tinte teurer als bei Tintenstrahldrucker

Kurz soll hier auf zwei Verfahren zur Herstellung von hydrophoben Barrieren näher eingegangen werden. Da wäre zuerst die Methode des Tintenstrahldrucks mit **Alkylketendimeren** (AKD). Hierbei handelt es sich um eine chemische Modifikation der Zellulose, um diese unpolar zu machen. Dazu wird die AKD-Lösung mit einem Tintenstrahldrucker auf das Papier aufgetragen und im Anschluss wird das Papier für eine kurze Zeit einer hohen Temperatur ausgesetzt, um das AKD zur Reaktion zu bringen. Das Ergebnis ist, dass die Oberflächen der Zellulosefaser unpolar werden und so bilden sich unpolare Bereiche auf den Papieren aus. Die zweite Methode ist der Wachsdruk. Hierbei wird ein kommerziell erhältlicher Wachsdruker mit originalen Wachspatronen (Festtintenpatronen) verwendet. Dieser Drucker schmilzt das Wachs auf und walzt es auf das Papier. So entsteht ein hydrophober Bereich an der Oberfläche des Papiers. Im zweiten Schritt wird das Papier mit dem Wachs kurz einer hohen Temperatur ausgesetzt, die Folge ist, dass das Wachs wieder aufgeschmolzen wird und in das Papier diffundiert; so dass durchgängige hydrophobe Barrieren im Papier entstehen. Zur besseren Veranschaulichung dieser Präparation wird auf die Abbildung 14 für die Herstellung von μ PADs im experimentellen Teil dieser Arbeit verwiesen (Kapitel 3.5).[2, 34, 36-38]

Der vierte Punkt in dem sich die μ PADs unterscheiden, sind ihre Detektionszonen und die damit verbundenen Detektionsverfahren. Die gängigsten Detektionsverfahren sind Farbmessungen,[38-40] Fluoreszenzmessungen [41, 42] und elektrochemische Messungen.[43] Für diese drei Detektionsmethoden gibt es verschiedenste Beispiele; für mehr Informationen zu diesen drei Messmethoden verweise ich auf einschlägige Übersichtsartikel, in denen eine große Anzahl von ihnen aufgeführt sind.[2, 3] Die in diesen Artikeln aufgeführten Messmethoden sind auch immer gleich mit den jeweiligen Beispielen für die entsprechenden Analyten wie z.B. Glukose, Bakterien, Proteine, pH-Wert, Pilzgifte, Metallionen, HIV-1 Antigen, Pestizide und weitere versehen.[2, 3] Die einfachste Detektion für μ PADs kann mit dem bloßen Auge bei einer Farbveränderung oder einer Lumineszenz beobachtet werden. Diese gibt meist nur eine Aussage, ob der Analyt vorhanden ist oder nicht. Für Konzentrationsbestimmungen wird dann meist ein elektronisches Detektions- und Analysesystem benötigt. Eine andere Art von

μ PADs kommt ohne elektronische Detektionssysteme aus. Hier wird über die Länge der entstehenden Farbbande [40] oder über Positivaussagen einer Messreihe auf einem einzigen Papierstreifen die Konzentration oder der Konzentrationsbereich bestimmt.[35, 39] Für jene μ PADs, die für die Konzentrationsbestimmung ein elektronisches Detektionssystem benötigen, gibt es unterschiedlichste Systeme wie einen klassischen Scanner, ein Potentiometer, eine Digitalkamera oder, was immer öfter Einsatz findet, ist ein Smartphone, da es über eine Lampe, eine Kamera und eine Recheneinheit mit Ausgabedisplay verfügt. Zudem kann es leicht erweitert werden.[2, 3, 43]

Eine noch nicht so verbreitete Methode ist hingegen die Detektion der Raman-Streuung oder genauer die der Oberflächenverstärkten Raman-Streuung. Natürlich gibt es auch zu dieser Detektionsmethode bereits Literatur und unterschiedliche Forschungsarbeiten. Dabei sei an dieser Stelle nur auf einen Übersichtsartikel in der Angewandten Chemie verwiesen,[3] da eine ausführliche Betrachtung dieser Systeme im nachfolgenden Kapitel 2.5.3 vorgenommen wird.

2.5 SERS in der Analytik

SERS kann zu verschiedensten analytischen Zwecken eingesetzt werden. Dabei kann mit SERS die Ausrichtung von Molekülen auf einer Oberfläche bestimmt werden,[44] es kann Einzelmolekülspektroskopie durchgeführt werden,[5, 6, 18, 23] es können Kinetikstudien unternommen werden [45] oder es können Analyten unterschiedlichster Art identifiziert und quantifiziert werden.[46-49] Auf diesen letzten Punkt soll in diesem Kapitel vor allem eingegangen werden. Dabei soll es um die Präparation von SERS-Substraten auf Papieren und μ PADs gehen und was zur Quantifizierung von Analyten an verschiedenen Systemen bereits beschrieben ist.

2.5.1 SERS-Substrate

SERS-Substrate lassen sich prinzipiell in drei verschiedene Arten einteilen: Metallnanopartikelsuspensionen, Metallnanopartikel aufgetragen auf "festen" Substraten, und Metallnanostrukturen hergestellt direkt auf "festen" Substraten.[49] Es gibt auch noch weitere Materialien, die das Raman-Signal verstärken wie z.B. Quantenpunkte oder Graphen,[46] auf diese soll aber hier nicht weiter eingegangen werden. Die Gemeinsamkeit der anderen drei SERS-Substrate ist, dass sie alle aus Metallen bestehen. Die zwei gebräuchlichsten Metalle, die für die Herstellung von Substraten Verwendung finden, sind Gold und Silber.[46-49] Es gibt aber

auch andere Metalle, die eingesetzt werden können, wie z.B. Kupfer oder Aluminium.[46] Hier soll nur auf SERS-Substrate aus Gold und Silber eingegangen werden, da nur diese in der vorliegenden Arbeit genutzt werden.

Die erste Art von SERS-Substraten sind Metallnanopartikelsuspensionen. Zwei prinzipielle Methoden zur Herstellung von Metallnanopartikelsuspensionen sollen hier vorgestellt werden. Zum einen ist das die Laserablation von Gold oder Silber in einem Lösungsmittel. Hier wird mit einem hochenergetischen Laser ein Plasma auf einer Gold- oder Silberoberfläche gezündet, welche sich z.B. in Wasser befindet. Das hierbei gebildete atomare Metall bildet in Interaktion mit dem Lösungsmittel dann Nanopartikel. Die dabei entstehen Nanopartikel sind sphärischer Natur und haben keine organischen Moleküle auf ihrer Oberfläche. Ihre Größe kann z.B. über die Lasereinstrahlzeit oder den pH-Wert des Wassers reguliert werden.[49]

Die zweite Methode der Herstellung von Metallnanopartikelsuspensionen ist die nasschemische Synthese von Nanopartikeln. Diese Methode beruht auf der Reduktion von Metallpräkursoren in einem Lösungsmittel. Diese grundlegende Methode ist sehr verbreitet bei der Herstellung von metallischen Nanopartikeln, da sie einen leichten Zugang zu Nanopartikeln ermöglicht und eine hohe Variabilität bei den herzustellenden Nanopartikeln zulässt. Diese Variabilität zeigt sich vor allem in den entstehenden Nanopartikel-Formen, die von sphärischen NP[50] über dreieckig planare NP,[51-53] Nanostäbchen,[54] sternförmige NP [55, 56] bis hin zu weiteren Formen gehen.[46, 47, 49, 57, 58] Die Synthese der unterschiedlichen Formen und Größen wird über die Präkursor, die Seed-Nanopartikel, die Reduktionsmittel, die oberflächenaktiven Substanzen und die Reaktionsbedingungen sowie die Reaktionsgeschwindigkeiten gesteuert.[48-58] Ein Beispiel für eine klassische Synthese ist die Reduktion von Tetrachlorgoldsäure oder Silbernitrat in wässriger Lösung mit Trinatriumcitrat ohne Seed-NP.[50, 59] Diese Reaktion produziert als Grundform sphärische Nanopartikel für Gold und Silber, wobei Gold wesentlich einheitlichere sphärische NP ergibt als Silber (Abbildung 7 A).[59] Silber zeigt zwar auch zum großen Teil näherungsweise sphärische NP, aber es werden auch Stäbchen, Dreiecke oder Rechtecke bei der Synthese beobachtet (Abbildung 7 B).[60] Als weiteres Reduktionsmittel für die Nanopartikelsynthese seien hier noch z.B. Natriumborhydrid, Hydrazin oder Hydroxylaminhydrochlorid genannt.[49] Als oberflächenaktive Substanzen kommen z.B. Polyethylenglycol, Cetyltrimethylammoniumbromid oder Polyvinylpyrrolidon zum Einsatz, für eine bessere Kontrolle der NP-Form.[49]

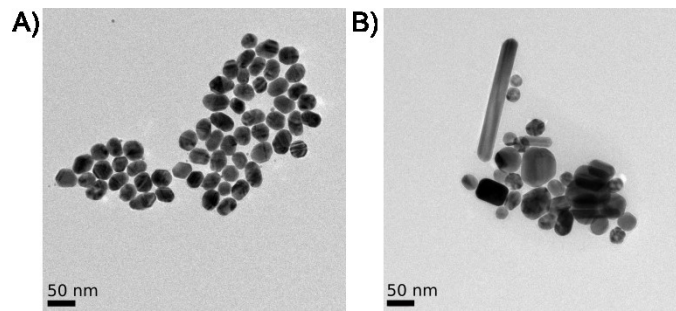


Abbildung 7 Transmissionselektronenmikroskopie-Bilder (= TEM-Bilder) von Gold- (A) und Silber-NP (B), die durch Citrat-Reduktion hergestellt wurden.

Eine Unterart der Metallnanopartikelsuspensionen sind Suspensionen von Kern-Schalen-Nanopartikeln. Bei diesen Suspensionen gibt es Kern-Schale-NP, die aus übereinander geschichteten Lagen von gleichen oder verschiedenen Metallen bestehen oder bei denen der Kern aus einem anderen Material besteht, der dann mit Nanopartikeln beschichtet ist.[54, 61, 62] Die Kerne bei der zweiten Art von Kern-Schale-NP können z.B. aus Polymeren oder auch aus Oxiden bestehen.[54, 61]

Für die Herstellung von SERS-Substraten, bei denen Metallnanopartikel auf “feste“ Substrate aufgetragen werden, werden die Metallnanopartikelsuspensionen genutzt. Bei den “festen“ Substraten kann es sich um Objektträger,[63] Papiere,[64] Füllmaterialien [65] oder sogar um Gele [66] handeln. Die Unterschiede bestehen nicht nur in den “festen“ Substraten, sondern auch in den verschiedenen Auftragungsarten. So können die Substrate durch Eintauchen,[67] durch Auftropfen,[63, 68] durch Abfiltrieren,[64] durch Aufmalen,[69] durch Drucken [70] oder durch Aufsprühen [71] einer Metallnanopartikelsuspension hergestellt werden.[47] Ein Spezialfall ist Gel, wobei die Metallnanopartikelsuspension direkt bei der Herstellung des Gels mit eingebracht wird.[66] Von den vorgestellten “festen“ Substraten und Auftragungsmethoden soll hier nur etwas näher auf die eingegangen werden, die Papier als Substrat haben und durch Auftropfen, Drucken oder Sprühen hergestellt wurden, da diese Methoden in der vorliegenden Arbeit getestet wurden. Die einfachste Methode ist das Auftropfen der Metallnanopartikelsuspension, hier wird einfach die Suspension mit einer Pipette auf das Papier aufgetragen.[64]

Für die Methode des Druckens von Suspensionen sind Veröffentlichungen von verschiedenen Gruppen zu finden.[47, 70, 72-80] Zum Drucken der Suspensionen werden zwei Verfahren eingesetzt, der Siebdruck [74] oder der Tintenstrahldruck.[70, 74] Jede dieser beiden Methoden hat Vor- und Nachteile. Der Siebdruck ist von der Methode und der Reinigung der Sieb-

druckmaske her einfach, hat aber den Nachteil, dass eine Siebdruckmaske benötigt wird. Der Nachteil der Siebdruckmaske ist, dass bei jeder Veränderung des Drucklayouts eine neue Maske benötigt wird. Die Siebdruck-Methode ist somit für die Entwicklung von Layouts nicht besonders geeignet. Die andere Druckmethode ist der Tintenstrahldruck. Es gibt zwei Sorten von Tintenstrahldruckern, piezoelektrische und thermale Drucker. Das Wirkungsprinzip von beiden Methoden ist in Abbildung 8 dargestellt.[3] Es beruht bei beiden darauf, dass Druck auf die Tinte im Inneren des Druckkopfes ausgeübt wird und so ein definiertes Volumen an Tinte aus dem Druckkopf abgegeben wird. Der Unterschied der beiden Methoden liegt in der Druckerzeugung. Beim Piezodruckkopf dehnen sich Piezoelemente aus und erzeugen so den Druck und beim Thermaldruckkopf wird ein Teil des Lösungsmittels der Tinte verdampft und die entstehende Gasblase erzeugt den nötigen Druck.[3, 72] Vorteil der Tintenstrahl-Druckmethode ist, dass das Layout sehr einfach verändert werden kann. Nachteil ist, dass die Nanopartikelsuspensionen mit zusätzlichen Komponenten versehen werden müssen, um die Druckeigenschaften einzustellen.[76, 77]

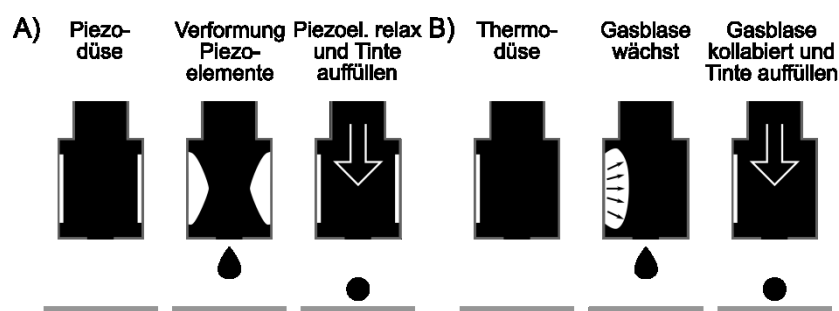


Abbildung 8 Arbeitsprinzip von A) piezoelektrischen und B) thermalen Tintenstrahldruckköpfen.[3]

Eine weitere Methode zur Herstellung von Nanopartikelbeschichtungen ist das Aufsprühen von Suspensionen. Hierbei wird die Suspension in einen Gasstrom geleitet und es bildet sich ein Gemisch aus fein verteilten Suspensionströpfchen und Gas. Dieses Aerosol wird dann durch den Gasstrom auf das "feste" Substrat aufgetragen.[71, 81-85]

Die dritte Art der Herstellung von Metallnanostrukturen findet direkt auf dem "festen" Substrat statt. Beispiele für die eingesetzten Methoden sind z.B. die direkte chemische Synthese von Nanopartikeln auf Substraten,[86-92] die chemische Gasphasenabscheidung (englisch: chemical vapour deposition = CVD)[93, 94] oder lithographische Methoden.[47, 49, 95-97] Bei all diesen Methoden werden die SERS-aktiven Nanomaterialien direkt auf dem Substrat erzeugt. Der Vorteil der Lithographie ist, dass mit ihr sehr definierte Nanostrukturen herge-

stellt werden können. Der Nachteil dieser Methode ist, dass sie entsprechende Labore mit der dazugehörigen Laborausstattung und dem Fachwissen des Personals erfordert. Eine weitere Methode um Oberflächen, wie z.B. auch Papiere, mit NP zu modifizieren, ist die CVD. Genau wie bei der Lithographie wird jedoch auch hier eine kostenintensive und anspruchsvolle Laborausstattung benötigt. Die letzte Methode ist die direkte chemische Synthese. Sie ist günstig und in normal ausgestatteten Laboren gut handhabbar. Ihr Nachteil ist aber, dass die selektive Beschichtung nur eines bestimmten Teils eines Papiers nicht so einfach möglich ist, da das Papier immer in mindestens eine Reaktionslösung eingetaucht werden muss.[86-91]

2.5.2 Quantifizierung mit SERS

Die quantitative und reproduzierbare Messung von SERS-Signalen ist, wie im Vorfeld schon erwähnt, eines der schwierigsten Unterfangen, da die Bestimmung der Signalintensität ($I(SERS)_S^{st}$) von einem Analyten bei der SERS-Messung von vielen Faktoren beeinflusst wird. Diese Faktoren sind direkt und indirekt aus der Gl. 24 abzulesen. Die zwei Faktoren, die direkt abzulesen sind, sind die Konzentration des Analyten (N_0) und die Lichtintensität des eingestrahlten Lichtes (I_L). Die anderen beiden Faktoren, der spezifische Raman-Streuquerschnitt der adsorbierten Moleküle (σ_{ads}) und der EM-Verstärkungsfaktor (EF_{EM}), zeigen nur indirekt, welche Parameter das Signal noch beeinflussen. Indirekte Faktoren, die die Signalintensität noch beeinflussen, sind z.B. das eingesetzte Nanomaterial (z.B. Form und Metall)[60], der pH-Wert bei der Messung,[60, 98-100] die Polarität der NP-Oberfläche [101] oder die Konzentration an Nanopartikeln in der Probe oder auf dem Substrat.[67, 71, 72] Ein weiterer Parameter ist der Messaufbau selbst, der die gemessene Signalintensität beeinflusst. Die vielen Parameter, die die Messung beeinflussen, machen es schwierig, Intensitäten bei SERS-Messungen von verschiedenen Systemen direkt zu vergleichen. Hingegen wurde schon gezeigt, dass bei einem gewählten Messaufbau, konstanten Messbedingungen und einer definierten Präparationsmethode der SERS-Proben SERS-Intensitäten verglichen werden können und so auch quantitative SERS-Messungen möglich sind.[64, 67, 70-75, 92]

Die Korrelation der gemessenen SERS-Intensitäten und der dazugehörigen Konzentration des Analyten ist aber noch nicht vollständig geklärt, was auch daran zu sehen, dass je nachdem welche Veröffentlichungen betrachtet werden, unterschiedliche Korrelationsfunktionen genutzt werden. Zum einen wird ein linearer Zusammenhang zwischen der Signalintensität und der logarithmischen Konzentration des Analyten angenommen, meist bis eine Sättigung auftritt.[66, 89, 92, 99] Dies ist äquivalent zur Korrelationen der Daten mit linearer x-Achse und

einer logarithmischen Fitfunktion.[86, 87] Andererseits wird der lineare Zusammenhang bei logarithmischer Konzentrationsachse nur für geringe Konzentration angenommen und bei höheren Konzentrationen von einer nicht näher definierten nicht-linearen Korrelation ausgegangen.[67, 71, 74, 78, 80] Andere fitten ihre Daten ebenfalls über den gesamten Messbereich mit linearen Funktionen, nachdem sie sowohl von Intensität als auch Konzentration den Logarithmus gebildet haben[61] oder den reziproken Wert genommen haben.[73] Dabei entspricht die doppelt reziproke Auftragung der linearisierten Auftragung einer Langmuir-Isothermen. Die Langmuir-Isothere ist ebenfalls eine häufig verwendete Korrelationsfunktion [45, 64, 75, 77, 102, 103], oder sie ist genähert bei geringen Konzentrationen mit einer linearen Funktion.[60, 76, 98] Um die Anpassung an die experimentellen Daten noch zu verbessern, werden erweiterte und weitere Modelle zur Langmuir-Isotherme genutzt, wie z.B. die Frumkin-Isotherme,[101, 103] die Hill-Gleichung,[104] eine Dual-Positions-Langmuir-Isotherme [105] oder die BET-Isotherme.[100]

Die Erklärung, warum die eine oder andere Korrelationsfunktion verwendet wird, ist oft, dass sich die Daten mit dieser Korrelationsfunktion gut anpassen lassen. Es werden meist keine Aussagen dazu gemacht, warum es genau zu diesem Verhalten kommt oder wie dieses mit dem SERS-Effekt in Übereinstimmung steht. [64, 71, 76] In anderen Veröffentlichungen wird näher darauf eingegangen, dass es sich um einen Adsorptionsprozess des Analyten handelt, oder das Langmuir Modell wird beschrieben, welches für adsorbierte Moleküle gilt. Alternativ werden z.T. Analyten verwendet bei welchen bekannt ist, dass sie kovalente Bindungen zu den verwendeten Metallen ausbilden (z.B. Thiole an Gold oder Silber) und so eine definierte Adsorption stattfindet.[45, 75, 98, 100, 105]

Soll die Konzentration von Analyten in Matrices bestimmt werden, tritt zudem meist das Problem der Überlagerung von Raman-Banden oder eine beträchtliche Untergrund-Fluoreszenz auf. Um dennoch eine Quantifizierung durchführen zu können, gibt es verschiedene Varianten wie die multivariate Datenanalyse oder es wird eine vorherige Chromatographie durchgeführt, um eventuell vorhandene Störsubstanzen abzutrennen. Auf die Chromatographie wird in Kapitel 2.5.3 näher eingegangen. Hier seien nur zwei Beispiele zur multivariaten Datenanalyse vorgestellt, bei denen die Matrix Urin ist.[106, 107] In beiden Beispielen wird die Standardadditionsmethode in Verbindung mit der MCR-ALS-Methode (englisch: multivariate curve resolution-alternating least squares method) verwendet, um trotz Matrix eine Quantifizierung durchzuführen zu können.[106, 107]

Bei den bisher vorgestellten Quantifizierungen von Analyten ist der Analyt immer direkt in Interaktion mit dem Nanomaterial getreten und es wird über die Intensität des SERS-Spektrums des Analyten die Konzentration bestimmt. Es gibt aber auch noch die Möglichkeit, die Konzentration eines Analyten indirekt über die Veränderung des Spektrums eines Reporter-moleküls zu bestimmen. So ist es z.B. möglich, die Glukose-Konzentration einer Lösung mit 4-Thiophenylboronsäure beschichteten Goldstäbchen zu messen.[108] Dabei wird die Intensitätsveränderung der B-OH Streckschwingung für die Bestimmung der Konzentration von Glukose benutzt, wobei sich ein linearer Zusammenhang zwischen Signalintensität und Konzentration zeigt.[108] Weitere Arten sind kooperative Reportermoleküle wie z.B. Thiol-modifizierte-Glukose (Binder) und 4-Pyridinthiol (Signalgeber) oder Wirtsmoleküle, in die sich die Analyten einlagern.[109, 110]

Eine weitere indirekte Art der Konzentrationsbestimmung von Analyten bei SERS-Messungen ist die Messung der Verschiebung von SERS-Banden eines Reporter-moleküls als Funktion der Analytkonzentration.[111-118] Dazu wird zumeist ein Thiophenol mit einer funktionellen Gruppe in para-Position genutzt, welches auf Gold- oder Silber-NPn über die Thiolgruppe gebunden ist. Daran wird ein Antikörper, Enzym oder ein DNA-Strang kovalent über die freie funktionelle Gruppe des Thiophenolderivats gebunden.[111-113, 116-118] Wird zu einem dieser Systeme der entsprechende Analyt in verschiedenen Konzentrationen hinzugegeben, kann bei ausgewählten SERS-Banden eine Verschiebung in der Position der Bande beobachtet werden.[111-113, 116-118] Dasselbe kann ebenso ohne ein zweites Molekül am Thiolderivat beobachtet werden, indem nur der Analyt zum SERS-Substrat mit beschichteten Thiolverbindungen hinzugegeben wird.[114, 115] In einer Veröffentlichung konnte sogar gezeigt werden, dass es ausreicht, nur die Konzentration des Thiols zu verändern, um eine Verschiebung einer SERS-Bande des Thiols zu beobachten.[115] Die Verschiebungen der hier aufgeführten SERS-Signale liegen zwischen 3 cm^{-1} bis zu 13 cm^{-1} . [115, 118] Diese Verschiebungen werden auf mechanischen Stress, Veränderung des Charge-Transfer-Komplexe oder auf mehr Platzbedarf für die Thiole zurückgeführt.[111-118]

2.5.3 μ PADs mit SERS-Detektion

Der Grundgedanke beim Einsatz von μ PADs mit SERS-Detektion ist es, die chromatographischen Eigenschaften von Papier und die Kontrolle der Flussrichtung des Lösungsmittels mit der SERS-Detektion zu kombinieren.

Die ersten Versuche zur Kopplung von Papierchromatographie und SERS-Messungen fanden auf Papieren ohne hydrophobe Barrieren statt.[119] Um die Flussrichtung des Lösungsmittels ohne hydrophobe Barrieren kontrollieren zu können, werden die Papiere zu speziellen Formen zugeschnitten, wie z.B. einem Stern [120], einer langgestreckten Raute [77] oder einem rechteckigen länglichen Streifen.[94] In den beiden ersten Fällen findet die SERS-Detektion an den Endspitzen des Papiers statt, weil sich dort der Analyt konzentriert.[77, 120] Bei anderen Experimenten wird das einfache Rechteckpapier als Form gewählt und eine 2D-Chromatographie auf dem Papier durchgeführt oder ein 2D-Chromatogramm der Länge nach gemessen.[76, 93, 119]

In der Literatur zu μ PADs mit SERS-Detektion oder einfachen Punktmessungen wird Wachs als das bevorzugte Barrieren Material beschrieben [71, 87, 88, 121-125], da es einfach zu handhaben ist und eine günstige Produktion von hydrophoben Barrieren ermöglicht, trotz höherer Anschaffungskosten für den Drucker und die Tinte.[71, 121]

Bei den Messungen, die mit μ PADs mit SERS-Detektion gemacht wurden, handelt es sich um die Bestimmung von Lösungen mit nur einem Analyten,[88, 121] um Suspensionen mit große Partikel & Analyt,[80] oder um Analyt-Mischungen, die mit speziell modifizierten Nanopartikel detektiert werden [124, 125] oder um vorher aufgearbeitete Analyt-Mischungen.[122] Die Beispiele der μ PADs, die ohne modifizierte Nanopartikel arbeiten, haben als Funktionsweise, dass die flüssige Probe mit dem Analyt auf den Startpunkt auf der einer Seite des μ PAD aufgebracht wird und von dort zur Detektionszone auf der anderen Seite fließt. Dabei bleibt die Matrix, wenn vorhanden, am Startpunkt und nur der Analyt fließt zur Detektionszone.[80, 88, 121, 122] Anders ist es bei μ PADs mit Nanopartikeln, die mit Erkennungseinheiten modifiziert worden sind. Hier fließt nicht nur der Analyt über die Detektionszone, sondern auch andere Matrixbestandteile, wobei aber nur der Analyt an den funktionalisierten NPn der Detektionszone gebunden und so selektiv detektiert wird; die anderen Bestandteile die über die Detektionszone hinaus zum Papierende laufen, welches quasi als „Abfallaufnahmebereich“ fungiert.[124, 125]

2.6 Adsorptionsisothermen

Adsorption ist die Anreicherung von Teilchen an einer Phasengrenzfläche, z.B. zwischen einer flüssigen Phase (Lösung) und einer festen Phase (Adsorbens), wie es für die aktuellen Betrachtung relevant ist.[126] Die mathematische Beschreibung des Zusammenhangs zwischen

der Konzentration der gelösten Teilchen (Adsorptiv) in Lösung und der Konzentration der adsorbierten Teilchen (Adsorbat) an einem Adsorbens im Gleichgewichtszustand, bei einer konstanten Temperatur, wird als Adsorptionsisotherme bezeichnet. In diesem Kapitel sollen sechs Isothermen vorgestellt werden, die Langmuir-, Henry-, Freundlich-, Frumkin-, BET- (= Brunauer, Emmett und Teller) und Hill-Isotherme.

2.6.1 Langmuir- und Henry-Isotherme

Die Langmuir-Isotherme ist nach ihrem Entdecker Irving Langmuir benannt. Das zugrunde liegende physikochemische Modell für die mathematische Darstellung der Langmuir-Isotherme beruht auf den nachfolgenden Annahmen:

- I) An einer Phasengrenze weist das Adsorbens definierte Adsorptionsplätze auf, die alle äquivalent sind (Abbildung 9).
- II) Diese Adsorptionsplätze können jeweils nur ein Adsorbat beherbergen, was zu maximal einer Monolage bei einer kompletten Besetzung aller Oberflächenplätze führt.
- III) Die Adsorbate haben untereinander keinerlei Wechselwirkung, womit die Wahrscheinlichkeit, dass ein freier Adsorptionsplatz besetzt wird unabhängig davon ist, ob die Nachbarplätze besetzt sind.

Wird für diesen Fall das dynamische Gleichgewicht von Adsorption und Desorption betrachtet Gl. 26 (Abbildung 9), können die Ratengleichungen für den Adsorptions- ($\frac{d\theta}{dt} = k_{ads}c_s(1 - \theta)$) und Desorptionsprozess ($\frac{d\theta}{dt} = k_{des}\theta$) aufgestellt werden und im Gleichgewichtszustand gleichgesetzt werden (Gl. 27). Unter Einbeziehung der Gl. 28 kann die Gl. 27 in Gl. 29 umgeformt werden, welche eine mögliche Schreibweise der Langmuir-Isotherme darstellt.[14, 127, 128]

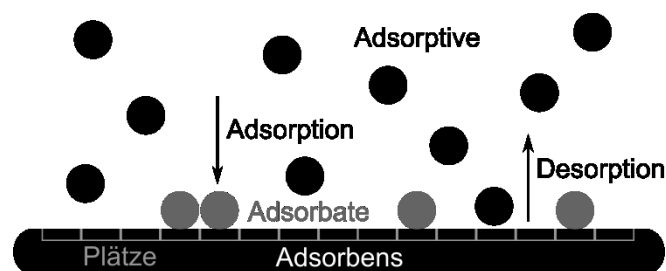


Abbildung 9 Schema der Adsorption von Adsorptiven an das Adsorbens.[128]



Gl. 27 $k_{ads}c_S(1 - \theta) = k_{des}\theta$

Gl. 28 $K = \frac{k_{ads}}{k_{des}}$

Gl. 29 $K_L c_S = \frac{\theta}{(1-\theta)}$

θ steht für den Bedeckungsgrad und ergibt sich aus der Anzahl von besetzten zu allen vorhandenen Plätzen ($\theta = \frac{\text{Anzahl besetzte Plätze}}{\text{Anzahl vorhandene Plätze}}$). k_{ads} und k_{des} sind die Geschwindigkeitskonstanten für Adsorption und Desorption und c_S ist die Anfangskonzentration des Adsorptivs. K (oder K_L) ist die Gleichgewichtskonstante (= Adsorptionskonstante) für das dynamische Gleichgewicht zwischen Adsorption und Desorption im gegebenen System.[14, 127, 128]

Interessant für die quantitative Auswertung von Sensoren ist der Bedeckungsgrad des Sensors und das damit verbundene Signal des Sensors. Daher wird die Gl. 29 nach dem Bedeckungsgrad aufgelöst (Gl. 30). Das sich ergebende Sensorsignal (S) soll in diesem Fall direkt proportional zum Bedeckungsgrad des Sensors sein ($S = a\theta$) und da der maximale Bedeckungsgrad 1 ist, ist a gleich S_{max} (Gl. 31). Wird das Sensorsignal (S) gegen die lineare Konzentration (c_S) aufgetragen ergibt sich ein asymptotischer Verlauf einer Sättigungskurve (Abbildung 10 A). Wird die Konzentrationsachse in logarithmischer Form aufgetragen, ergibt sich ein sigmoidaler Verlauf (Abbildung 10 B).[14, 127, 128]

Gl. 30 $\theta = \frac{K_L c_S}{1 + K_L c_S}$

Gl. 31 $S = S_{max} \frac{K_L c_S}{1 + K_L c_S}$

Für eine klassische Auswertung wird die Gl. 31 in eine lineare Form gebracht (Gl. 32). Dafür wird der reziproke Wert des Sensorsignals gegen den reziproken Wert der Konzentration aufgetragen (Abbildung 10 C). Dann ist der Achsenabschnitt der reziproke Wert des maximalen Signals und die Steigung der reziproke Wert aus dem Produkt dem maximalen Signals und der Adsorptionskonstanten.[14, 128]

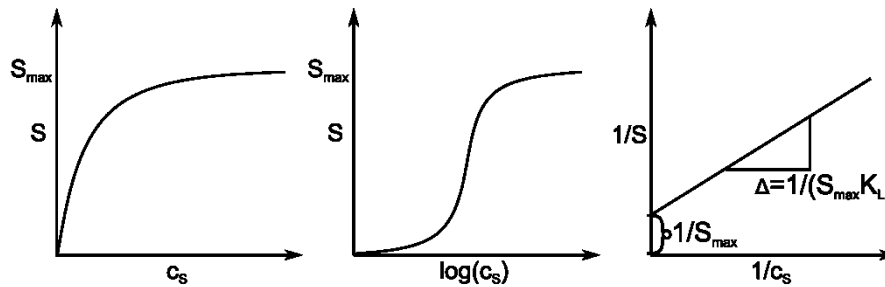


Abbildung 10 Auftragung der Langmuir-Isotherme in verschiedenen Diagrammtypen: A) lineare Achsen, B) logarithmische Konzentrationsachse und C) doppelt reziproke Auftragung.[14, 128]

$$\text{Gl. 32} \quad \frac{1}{S} = \frac{1}{S_{\max} K_L} \frac{1}{c_S} + \frac{1}{S_{\max}}$$

Wird nun die Isotherme bei sehr kleinen Konzentrationen ($K c_S \ll 1$) betrachtet, kann die Langmuir-Isotherme durch die Henry-Isotherme (Gl. 33) angenähert werden, welche einen linearen Zusammenhang zwischen Signal und Konzentration herstellt.[128]

$$\text{Gl. 33} \quad S = S_{\max} K_{He} c_S$$

Aus den Adsorptionskonstanten K der Isothermen lässt sich dann auch die Bindungsenergie (freie molare Standard-Gibbs-Energie) der Moleküle im gegebenen System nach Gl. 34 berechnen.[128]

$$\text{Gl. 34} \quad \Delta G^0 = -RT \ln K$$

2.6.2 Erweiterte und weitere Modelle zur Langmuir-Isotherme

Angenommen es gibt unterschiedliche Adsorptionsplätze (Typenanzahl = n) aber ansonsten gelten die gleichen Annahmen wie beim Langmuir-Modell, so ergibt sich der Bedeckungsgrad aus der Summe der verschiedenen Adsorptionsplätze (Gl. 35). γ_i ist dabei der Molenbruch des jeweiligen Adsorptionsplatztypen mit der dazugehörigen Gleichgewichtskonstanten K_i . Werden die Daten einer solchen Isothermen in gleicher Weise wie bei der linearisierten Langmuir-Isotherme aufgetragen ($\frac{1}{\theta}$ gegen $\frac{1}{c_S}$), so zeigen sich Unterbrechungen in der Anzahl der Ad-

sorptionsplatztypen minus Eins in der Graden, wobei n meist 2 oder 3 ist und sich die Gleichgewichtskonstanten (K_i) um mehrere Größenordnungen unterscheiden.[128]

$$\text{Gl. 35} \quad \theta = \sum_i^n \gamma_i \frac{K_i c_s}{1 + K_i c_s}$$

Eine andere Veränderung ist, wenn sich mit zunehmendem Bedeckungsgrad die freiwerdende Adsorptionsenergie verringert. Demnach werden zuerst die Plätze besetzt, die die größte Adsorptionsenergie freisetzen und dann die mit kleineren Adsorptionsenergien. Dieses Verhalten lässt sich durch eine Freundlich-Isotherme (Gl. 36) beschreiben, wenn die Energieabnahme einen logarithmischen Zusammenhang aufweist, wobei β und γ zwei systemspezifische Konstanten sind.[14, 128, 129]

$$\text{Gl. 36} \quad \theta = \beta c_s^{\frac{1}{\gamma}}$$

Wird hingegen bei der Adsorption angenommen, dass die Adsorbaten auch untereinander eine Wechselwirkung aufweisen, kann die Langmuir-Isotherme durch eine exponentielle Funktion erweitert werden, die dieser Interaktion Rechnung trägt (Gl. 37). Die so erhaltene Korrelationsfunktion wird als Frumkin-Isotherme bezeichnet. Der Parameter α zeigt dabei an, ob es sich um eine attraktive ($\alpha = \text{positive}$) oder abstoßende ($\alpha = \text{negative}$) Wechselwirkung handelt.[128]

$$\text{Gl. 37} \quad K_{Fr} c_s = \frac{\theta}{(1-\theta)} e^{-2\alpha\theta}$$

Ein weiterer Punkt, den die Langmuir-Isotherme ausblendet, ist, dass es auch mehrschichtige Adsorptionen geben kann. Um diesen Umstand in einer Isothermen zu beachten, haben S. Brunauer, P. Emmett und E. Teller die BET-Isotherme (Gl. 38) entwickelt. Sie geht von einer Mehrzahl von Adsorptionslagen aus und hat daher zwei Adsorptionskonstanten K_{B1} und K_{B2} . K_{B1} ist die Adsorptionskonstante der ersten Adsorptionslage und K_{B2} ist die Adsorptionskonstante aller weiteren Adsorptionslagen.[14, 130]

$$\text{Gl. 38} \quad \theta = \frac{K_{B1} c_s}{(1 - K_{B2} c_s)(1 - K_{B2} c_s + K_{B1} c_s)}$$

Die letzte vorgestellte Isotherme ist die Hill-Isotherme oder das Hill-Modell (Gl. 39). Sie ist entwickelt worden, um die Adsorption von Adsorptiven an Proteinen zu beschreiben, denn hier bewirkt ein Adsorbat die Veränderung der Bindungsaffinität der anderen freien Plätze im

Protein. Allgemein kann gesagt werden, dass durch Adsorption eines Adsorptivs die Bindungsaffinität weiterer freier Plätze verändert wird, ähnlich wie bei den Freundlich- oder Frumkin-Isothermen.[129]

$$\text{Gl. 39} \quad \theta = \frac{c_S^n}{K_{Hi} + c_S^n}$$

2.7 Freisetzungssysteme

Die hier als Freisetzungssysteme bezeichneten Materialien, sind mesoporöse Materialien, die Transportteilchen enthalten und über einen Verschlussmechanismus verfügen, welcher über einen externen Stimulus (SU) geschaltet werden kann (Abbildung 11 A). Die Idee bei den Freisetzungssystemen ist es, dass ein externer Stimulus zur Öffnung des Verschlusses der mesoporösen Materialien führt und so eine Vielzahl an Transportteilchen freisetzt (Abbildung 11 B).[131]

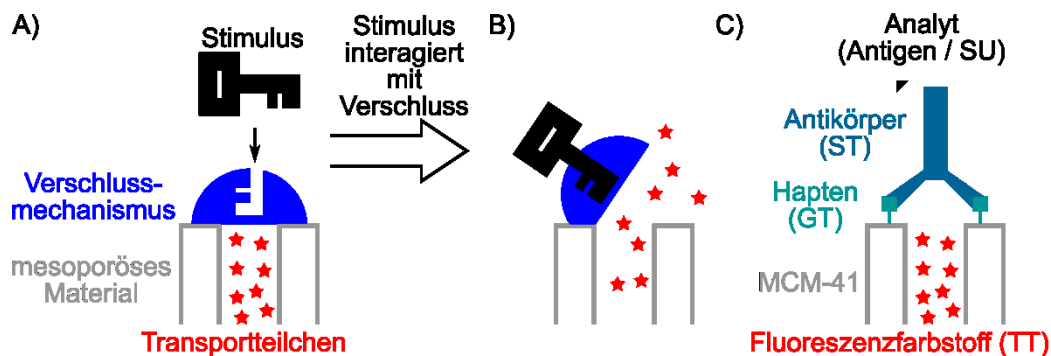


Abbildung 11 A) und B) allgemeines Prinzip der Freisetzungssysteme und C) konkretes Freisetzungssystem auf Antikörperbasis.[131]

Dabei können zwei Arten von Stimuli unterschieden werden, physikalische und chemische. Bei den physikalischen Stimuli kann es sich z.B. um Licht, Temperatur oder Magnetismus handeln. Diese Freisetzungssysteme sind in der Anwendung immer dann interessant, wenn in das betroffene System keine weiteren Chemikalien eingebacht werden sollen aber dennoch eine Kontrolle der Freisetzung der Transportteilchen ermöglicht sein soll.[131]

Hingegen ist es bei chemischen Stimuli so, dass geringe Mengen an Stimuli-Chemikalien ausreichen um eine große Anzahl an Transportteilchen (TT) freizusetzen. Da es in dieser

Arbeit um Sensormaterialien geht, kann dieser Mechanismus zur Signalerzeugung und Signalverstärkung genutzt werden. Für die Signalerzeugung und Signalverstärkung werden vor allem Farbstoffe oder Lumineszenz-Farbstoffe eingesetzt. Bei den Verschlussmechanismen und den chemischen Stimuli, die eingesetzt oder detektiert werden, gibt es eine große Vielfalt. So können z.B. Metallionen, kleine organische Moleküle (z.B. Glukose), Enzyme, Hydronium-Ionen (pH-Wert), Oligonukleotide, kleine redox-aktive Moleküle oder kleine molekulare Antigene eine Stimulanz sein. Dementsprechend gibt es für jede dieser Arten von Stimulanzen auch entsprechende Verschlussmechanismen, die nur auf das jeweilige Stimulanz reagieren. Hierbei handelt es sich oft um eine Kombination aus einem **Gatekeeper** (GK) und einem **Stopper** (SP). Der Gatekeeper ist direkt kovalent auf der Oberfläche des mesoporösen Materials gebunden und dient zur Verlinkung des Stoppers. Die beiden haben eine Affinität (kovalente oder nicht kovalente Bindungen) zueinander. Stopper und Gatekeeper müssen so gewählt werden, dass das Stimulanz-Teilchen zu einem der beiden funktionellen Einheiten eine wesentlich höhere Affinität besitzt, so dass die Bindung zwischen Stopper und Gatekeeper gelöst werden kann, wodurch die Poren der mesoporösen Materialien geöffnet werden und die Transportteilchen freisetzen werden. Als Beispiele seien hier Kronenether (GK) mit Metallionen (SP), Boronsäure (GK) mit Cyclodextrinen (SP), Amine (GK) mit DNA (SP) oder Haptene (GK) mit Antikörpern (SP) genannt.[131]

Hier soll es explizit nur um mesoporöse Silicatnanopartikel gehen, die als Verschlussmechanismus Haptene (Gatekeeper) mit Antikörpern (Stopper) haben. Abbildung 11 C. Das erste Sensormaterial dieser Art wurde 2009 vorgestellt für Sulfathiazol als Analyt (Stimulus = Antigen). Dabei wurden mesoporöse Silicatnanopartikel des Typs MCM-41 verwendet, welche mit Tris(2,2'-bipyridyl)dichlororuthenium(II) ($\text{Ru}(\text{bipy})_3$) als Lumineszenzfarbstoff (TT) beladen sind. Mit dieser Methode konnte Sulfathiazol über die Fluoreszenz von $\text{Ru}(\text{bipy})_3$ bis in den ppb-Konzentrationsbereich nachgewiesen werden.[131, 132]

Weitere Beispiele für Antikörper-geaterte mesoporöse Silicatnanopartikelmaterialien sind z.B. für den Inhibitor Finasterid oder den Sprengstoff Triacetontriperoxid beschrieben worden. Auch hier kamen Partikel des Typs MCM-41 zum Einsatz, die mit Rhodamin B oder Sulforhodamin B als Fluoreszenzfarbstoff bestückt waren und so einen Nachweis der Analyten bis in den ppb-Konzentrationsbereich zuließen.[133, 134]

Interessant bei der Detektion von Proben ist es nicht nur, einen Analyten zu bestimmen, sondern auch mehrere Analyten nebeneinander. Dabei ist die Identifikation und Quantifizierung

von z.B. Sprengstoffen ein wichtiges Forschungsgebiet. So wurden kürzlich Freisetzungssysteme für die Detektion von 2,4,6-Trinitrotoluol (TNT) bzw. Tetryl entwickelt, die auf einem rein chemischen Verschluss von beladenen Poren beruhen, allerdings eine unzureichende Selektivität aufweisen.[135, 136] Im Rahmen der Arbeiten des Fachbereichs an der BAM und in Kooperation mit einem Nachbarfachbereich wurde daher der Weg begangen, Antikörperbeschränkte Systeme für den parallelen Nachweis mehrerer Explosivstoffe mittels Fluoreszenzdetektion zu entwickeln. Mit dem entwickelten System ist es möglich, drei verschiedene Sprengstoffe auf einmal zu identifizieren und zu quantifizieren. Die drei Sprengstoffe sind TNT, Triacetontriperoxid und PETN (= Pentaerythrityltetranitrat).[137] Mehr als drei Substanzen nebeneinander mit Fluoreszenzfarbstoffen nachzuweisen, ist allerdings schwierig, da die Fluoreszenzbanden vergleichsweise breit sind und sich bei mehr Farbstoffen die Banden schnell überlagern. Mit dem beschriebenen System lassen sich die drei Sprengstoffe aber gut bis in den ppb-Konzentrationsbereich nachweisen. Um eine größere Zahl an Analyten nebeneinander nachzuweisen zu können, würden schmalere Signale benötigt, die dann z.B. eine Analyse über Mustererkennung zulassen. Letzteres ließe sich ideal über SERS-Spektren realisieren. Ob eine Kombination der vorhandenen Freisetzungssysteme mit den verwendeten μ PAD-SERS-System möglich ist, soll hier ebenfalls getestet werden.

2.8 Formeln und Definitionen für die Auswertung

Die Bestimmung der relativen Standardabweichung (englisch: **relative standard deviation** = RSD) wird über die Gleichungen Gl. 40 bis Gl. 42 berechnet. Dabei ist die Gl. 40 die Standardabweichung einer Stichprobe (s) mit x_i den jeweiligen Messwerten, \bar{x} dem Mittelwert über alle Messungen und n die Anzahl der Messungen.

$$\text{Gl. 40} \quad s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

$$\text{Gl. 41} \quad \bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

$$\text{Gl. 42} \quad RSD = \frac{s}{\bar{x}} \cdot 100\%$$

Die Nachweisgrenze wird nach Gl. 43 berechnet. Dabei ist s die Standardabweichung der Stichprobe und $\overline{x_{Blind}}$ der Mittelwert über mehrere Blindwertmessungen oder der Mittelwert über alle Datenpunkte in einem definierten Bereich aus einer Blindwertmessung. Ist $\overline{x_{Blind}}$

von den Daten im Vorfeld schon subtrahiert worden, reduziert sich die Gleichung für die Nachweisgrenze auf den ersten Summenterm (Gl. 44).

$$\text{Gl. 43} \quad LOD = 3 s + \overline{x_{Blind}}$$

$$\text{Gl. 44} \quad LOD = 3 s$$

3 Experimente

3.1 Chemikalien und Papiere

In Tabelle 2 sind alle in dieser Arbeit verwendeten Chemikalien aufgeführt mit Name, Kürzel (oder Summenformel), spezifizierter Reinheit nach Herstellerangabe und Bezugsquelle, von der die Chemikalien erhalten wurden. In allen Experimenten in denen von Wasser gesprochen wird, ist immer deionisiertes Wasser gemeint. Die Tabelle 3 listet die genutzten Papiersorten mit einigen Parametern der Papiere auf.

Tabelle 2 Chemikalienliste mit Name ([#] = weitere Angaben siehe nach Tabelle 3), Kürzel (oder Summenformel), Reinheit und Bezugsquelle (01 – Sigma-Aldrich Chemie GmbH, 02 – Acros Organics, 03 - Carl Roth GmbH + Co. KG, 04 - Fisher Scientific GmbH, 05 - AppliChem GmbH, 06 - Th. Geyer GmbH & Co. KG., 07 - abcr GmbH,)

Chemikalienname (Kürzel oder Summenformel)	Reinheit	Bezugsquelle
1-Hexanthiol (1-HT)	95 %	Sigma-Aldrich ⁰¹
1-Pentanthiol (1-PT)	98 %	Sigma-Aldrich ⁰¹
4-Aminothiophenol (4-ATP)	96 %	Acros Organics ⁰²
4-Mercaptobenzoessäure (4-MBS)	99 %	Sigma-Aldrich ⁰¹
4-Nitrothiophenol (4-NTP)	80 %	Acros Organics ⁰²
4-(tert-Butyl)thiophenol (4-TBTP)	97 %	Sigma-Aldrich ⁰¹
Acetonitril (AC)	99,9 %	Sigma-Aldrich ⁰¹
Adenin (AD)	≥ 98 % ≥ 99 %	Carl Roth ⁰³ Sigma-Aldrich ⁰¹
Cyclohexanthiol (CHT)	97 %	Sigma-Aldrich ⁰¹
Enoxacin (ENO)	100 %*	Kollegen
Enrofloxacin (ENR)	100 %*	Kollegen
Ethanol (ET)	absolut	Sigma-Aldrich ⁰¹
Freisetzungssystem S1-A ₁ (S1-A ₁) [#]	---	Kollegen
Freisetzungssystem S1-A ₂ (S1-A ₂) [#]	---	Kollegen
Glycerin (GL)	99 %	AppliChem ⁰⁵
Hydrogentetrachloraurat(III) Trihydrat (H[AuCl ₄])	≥ 99 %	Sigma-Aldrich ⁰¹
L-(+)-Ascorbinsäure (AS)	> 99,7 %	Fisher ⁰⁴
Natriumborhydrid (NaBH ₄)	≥ 96 %	AppliChem ⁰⁵
Natriumhydroxid (NaOH)	Plätzchen	AppliChem ⁰⁵
Natriumchlorid (NaCl)	≥ 99 %	Th. Geyer ⁰⁶
Pentaerythrityltetranitrat (PETN)	Lösung: 5 ppm	Kollegen
Phosphatgepufferte Salzlösung (PBS)	Lösung: 80 mM	Kollegen
Polyethylenimin (PEI) [mittlere M _w ~25000 bei LS / mittlere M _n ~10000 bei GPC / verzweigt / ≤1% Wasser]	---	Sigma-Aldrich ⁰¹
Deionisiertes Wasser [Millipore: Milli-Q® 2 Grad]	18,2 MΩ cm ⁻¹	Laboranlage
Rhodamin 6G (R6G)	98 %	Acros Organics ⁰²
Salpetersäure (HNO ₃)	66 %	AppliChem ⁰⁵
Silbernitrat (AgNO ₃)	99,8 %	AppliChem ⁰⁵
Sulforhodamin B (SRB)	75 %	Sigma-Aldrich ⁰¹
Tesafilm transparent universal 57405 (Tesafilm)	---	---
Trinatriumcitrat (Citrat)	≥ 98 %	Sigma-Aldrich ⁰¹
Trinitrotoluol (TNT)	Lösung: 5 ppm	Kollegen

Tris(2,2'-bipyridyl)dichlororuthenium(II) Hexahydrat ($\text{Ru}(\text{bipy})_3$)	99 %	abc ⁰⁷
Schwarz LC121BK (Farbe Drucker Brother)	---	Brother
Gelb LC121Y (Farbe Drucker Brother)	---	Brother
Cyan LC121C (Farbe Drucker Brother)	---	Brother
Magenta LC121M (Farbe Drucker Brother)	---	Brother

Tabelle 3 Eingesetzte **Papiere** (= PP).

Bezeichnung Typ	Firma	Material	Dicke [mm]	flächenbezogene Masse [g/m^2]	Fließrate	Anmerkungen
1	Whatman	Zellulose	0,18	87	mittel	qualitativ
390	Munktell	Zellulose	- - -	84	langsam	
8964	Ahlstrom	Glasfaser	0,43	75	- - -	

Die Freisetzungssysteme S1-A₁ und S1-A₂ bestehen aus SMPS (englisch: silica **mesoporous nanoparticles support** = Silikat mesoporöse Nanopartikel Träger) des Typs MCM-4. Die SMPS sind mit $\text{Ru}(\text{bipy})_3$ (S1-A₁) oder SRB (S1-A₂) beladen und haben polyklonale Antikörper als Stopper und entsprechende Haptene für TNT und PETN als Gatekeeper. Weitere Materialinformationen zu diesen Freisetzungssystemen sind der Veröffentlichung “Multiplexing detection of the explosives Triacetontriperoxid, TNT and PETN with a quick, sensitive and selective dip-stick assay using antibody-gated mesoporous materials“ [137] zu entnehmen (S1-A₁ = S1-A₂ in der Veröffentlichung; S1-A₂ = S1-A₃ in der Veröffentlichung).

3.2 Nanopartikel-Synthesen

Die Synthese der Silbernanopartikel-1 (**AgNP-1**) beruht auf der Reduktion von Silbernitrat mit Natriumborhydrid.[52] In einem Gefäß wurden 330 mL eines Gemisches mit der Zusammensetzung Silbernitrat ($c = 1,1 \times 10^{-4} \text{ M}$) und Trinatriumcitrat-Lösung ($c = 2,05 \times 10^{-3} \text{ M}$) vorgelegt und bei Raumtemperatur gerührt. Zu dieser Lösung wurden unter Rühren schnell 9 mL Natriumborhydrid-Lösung ($c = 5 \times 10^{-3} \text{ M}$) hinzugegeben. Es bildete sich schnell eine gelbliche Suspension mit Silbernanopartikeln.

Die Silbernanopartikel-2 (**AgNP-2**) wurden durch Reduktion von Silbernitrat mit Citrat synthetisiert.[50] 300 mL Silbernitrat-Lösung ($c = 1 \times 10^{-3} \text{ M}$) wurden in einem Gefäß vorgelegt und unter Rühren zum Sieden gebracht. Zur siedenden Lösung wurden 6 mL Trinatriumcitrat-Lösung ($c = 3,9 \times 10^{-2} \text{ M}$) hinzugegeben. Diese Reaktionsmischung wurde eine Stunde unter Sieden zur Reaktion gebracht und dabei auf 220 mL eingengt. Die so entstandene grau/braune Silbernanopartikel-Suspension wurde anschließend auf Raumtemperatur abgekühlt und abgefüllt.

Die Silbernanopartikel-3 (**AgNP-3**) wurden nach Lee und Meisel hergestellt.[50] 600 mL Wasser wurden in einem 1 L Rundkolben vorgelegt und unter Rühren wurden 602 μL Silbernitrat-Lösung ($c = 0,996 \text{ M}$) hinzugegeben. Anschließend wurde diese Lösung unter Rühren bis auf Rückfluss erhitzt und dann schnell 12 mL Trinatriumcitrat-Lösung ($c = 3,9 \times 10^{-2} \text{ M}$) hinzugegeben. Die gesamte Mischung wurde eine Stunde bei Rückfluss zur Reaktion gebracht und danach auf Raumtemperatur abgekühlt. Die grau/braune Suspension wurde in Glasfaschen abgefüllt und bei 6°C im Kühlschrank aufbewahrt.

Die vierte Silbernanopartikel Suspension (**AgNP-4**) wurde aus der AgNP-3-Suspension hergestellt. Die Methode ist angelehnt an eine Präparation für eine mit Silbernanopartikeln beschichtete Oberfläche.[101] 60 mL von AgNP-3 wurden bei 8970 g und 10°C für 30 min zentrifugiert. Von der zentrifugierten Suspension wurden 99 % des Volumens (Überstand) abgenommen und verworfen. Die restlichen 1 % ($600 \mu\text{L} = 100\times$ konzentrierte Suspension) wurden zur Präparation der AgNP-4 verwendet. Dazu wurden 58 mL (oder 58,2 mL) Wasser in einem 100 mL Rundkolben vorgelegt und bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurden 600 μL der hundertfach konzentrierten AgNP-3 Suspension hinzugegeben und dann schnell 300 μL oder 600 μL Polyethylenimin ($c \approx 1 \times 10^{-2} \text{ M}$). Der Rundkolben wurde mit Argon gespült und gut verschlossen und mit einem Argon-Ballon unter Überdruck gesetzt. Das Gefäß wurde zusätzlich mit Alufolie abgedunkelt und die Suspension wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Am darauf folgenden Tag wurde die AgNP-4 abgefüllt und im Kühlschrank bei 6°C aufbewahrt. Eine Probe wurde mit 45 mL der direkten AgNP-3 ohne Aufkonzentration und zusätzlichem Wasser und mit 5 mL PEI ($c \approx 1 \times 10^{-2} \text{ M}$) hergestellt.

Die Goldnanopartikel-1 (**AuNP-1**) sind nach Lee und Meisel hergestellt.[50] Dazu wurden 300 mL Wasser vorgelegt und mit 9 mL Hydrogentetrachloraurat(III) Lösung ($c = 2,56 \times 10^{-2} \text{ M}$) und 12 mL Trinatriumcitrat-Lösung ($c = 3,9 \times 10^{-2} \text{ M}$) unter Rühren versetzt. Die gesamte Reaktionsmischung wurde unter Rühren zum Rückfluss gebracht und eine Stunde lang so gerührt. In dieser Zeit bildeten sich die Goldnanopartikel und die entstehende Suspension zeigte eine rote Farbe. Nach Ablauf der Reaktionszeit wurde die Suspension auf Raumtemperatur abgekühlt und abgefüllt.

Die zweite Goldnanopartikelsuspension (**AuNP-2**) wurde für die Herstellung der Gold@Silber-Kern-Schale-Nanopartikel (**Au@AgNP**) synthetisiert.[59, 62] Dazu wurde ein 100 mL Rundkolben mit 50 mL Wasser befüllt und im Anschluss 63 μL Hydrogentetrachloraurat(III) Lösung ($c = 2 \times 10^{-2} \text{ M}$) hinzugegeben. Nun wurde die Lösung bis auf Rückfluss

erhitzt und schnell 0,5/0,4/0,35 mL Trinatriumcitrat-Lösung ($c = 3,9 \times 10^{-2}$ M) hinzugegeben. Diese Mischung wurde eine Stunde unter Rückfluss zur Reaktion gebracht und dann auf Raumtemperatur abgekühlt und im Kühlschrank bei 6 °C gelagert.

Mit den AuNP-2 als „Seed“-NP werden die Gold@Silber-Core-Shell-Nanopartikel (**Au@AgNP**) hergestellt.[62] In einem Rundkolben wurden 20 mL Wasser vorgelegt und mit 1 mL AuNP-2, 1 mL Trinatriumcitrat-Lösung ($c = 3,9 \times 10^{-2}$ M) und 3 mL L-(+)-Ascorbinsäure-Lösung ($c = 2 \times 10^{-2}$ M) versetzt. Das Ganze wurde unter Rühren auf 40 °C aufgeheizt und dann 750 µL Silbernitrat-Lösung ($c = 1 \times 10^{-2}$ M) mit einer Zutropfrate von 0,08 mL/min zur Mischung hinzugegeben. Nach Beendigung des Zutropfens wurde die Mischung noch 30 min bei 40 °C gerührt, bevor sie auf Raumtemperatur abgekühlt wurde. Die abgefüllte Nanopartikelsuspension wurde bei 6 °C im Kühlschrank aufbewahrt.

3.3 Charakterisierungsmethoden

Die Absorptions- und Extinktionsspektren wurden mit einem Zweistrahl V-650 UV-VIS Spectrophotometer der Firma JASCO gemessen. Die Lösungen und Suspensionen wurden im Transmissionsmodus in 1 cm Küvetten mit den jeweiligen Lösungsmitteln als Referenz gemessen. Die Papierproben wurden im Reflektionsmodus mit einer Ulbricht-Kugel und dem jeweiligen Papier oder einer Bariumsulfat-Probe als Referenz gemessen.

Für die Aufnahme der Emissionsspektren wurde ein FluoroMax-4 Spektralfluorimeter der Firma Horiba genutzt. Dieses Gerät hat eine Xenonlichtbogenlampe als Lichtquelle und verfügt über einen Anregungsmonochromator und Emissionsmonochromator, zum Einstellen der gewünschten Anregungswellenlänge und Detektionswellenlänge. Als Detektor wird eine Photomultiplier-Röhre verwendet.[138] Die Messungen der Lösungen erfolgten in 1 cm × 1 cm Quarzküvetten.

Für die Lichtmikroskopiemessungen wurde das LabRAM HR800 der Firma Horiba Jobin Yvon genutzt. Angaben zum LabRAM HR800 stehen im Abschnitt 3.7 Raman- und SERS-Messsysteme, da es vorrangig ein Raman-Mikroskop ist. Für die Größenidentifikation von Testpunkten und µPADs wurden diese Strukturen mit Beschichtung (Nanopartikelsuspension oder R6G-Lösung) vermessen (Kapitel 3.5).

Die Transmissionselektronenmikroskop-Aufnahmen wurden mit zwei TEMs erstellt, dem Tecnai G² 20 S-TWIN der Firma FEI und dem Philips CM200. In beiden Systemen kommt

eine LaB₆-Kathode mit einer Beschleunigungsspannung von 200 kV zum Einsatz. Gemessen wird in beiden TEMs im Hellfeldmodus. Die aufgenommenen TEM-Bilder wurden mit dem Programm ImageJ analysiert (Rasband WS. ImageJ, U.S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, imagej.nih.gov/ij/, 1997–2012).

Eine weitere Charakterisierungsmethode ist das Rasterelektronenmikroskop (englische: scanning electron microscope = SEM). Das XL30ESM der Firma FEI wird im Niedrigvakuummodus (33.3 Pa) betrieben und neben dem Sekundärelektronen-Detektor (englisch: secondary electrons) kommt ein energiedispersiver Röntgenspektroskopie-Detektor (englisch: energy dispersive X-ray spectroscopy = EDX oder EDAX) zum Einsatz. Die Proben wurden mit leitfähigem Kohlenstoffklebeband befestigt.

Zur Bestimmung des Zeta-Potentials und des hydrodynamischen Radius von Nanopartikeln in Suspension wurde ein Zetasizer Zano ZS der Firma Malvern verwendet. Dabei handelt es sich um ein Messgerät für die dynamische Lichtstreuung (englisch: dynamic light scattering) von Partikeln in Lösung.

3.4 Auftragung von Nanopartikeln auf Papier

Für die Auftragung der Nanopartikel auf Papier zur Herstellung der SERS-Substrate werden drei verschiedene Verfahren benutzt: das Auftropfen, das Sprühen mit einer Airbrush und das Drucken mit Bürotintenstrahldruckern.

Beim Auftropfen wurden Nanopartikelsuspensionen verschiedener Konzentration verwendet. Dazu wurden die synthetisierten Suspensionen AgNP-1 bei 17727 g für 30 min, AgNP-2/AuNP-1 bei 9727 g für 10 min und AgNP-3/4/AuNP-2/Au@AgNP bei 8970 g und 10 °C für 30 min zentrifugiert und ein definierter Teil der überstehenden Lösung wurde abpipettiert und verworfen. Diese konzentrierten Suspensionen wurden mit einer Eppendorf Pipette auf die Papiere, Testpunkten oder μ PADs aufgetragen, wobei die Volumina und Tropfenanzahl variiert wurden.

Für die Sprüh-Methode wurde eine Airbrush verwendet und zumeist die unbehandelten synthetisierten Nanopartikelsuspensionen genutzt. Der erste Aufbau zeigt den Airbrush-Aufbau mit den Bauelementen: Airbrush (Double Action Airbrush-Pistol AB 200 Kegel-Ø 0.2 mm) und einer manuellen und einer motorisierten Verschiebebühne (Abbildung 12 A). Betrieben wurde die Airbrush mit Stickstoff (99,999 %; Linde) und einem Druck von 200 kPa oder

250 kPa. Im zweiten Aufbau ist die manuelle Verschiebebühne gegen eine weitere motorisierte Verschiebebühne ausgetauscht, beide Positionierungssysteme werden über ein LabVIEW-Programm gesteuert und ein größerer Nanopartikelsuspensionstank ist angebracht (Abbildung 12 B). Die verwendeten Nanopartikelsuspensionen sind in der Auswertung aufgeführt. Die Sprühzyklen sind drei oder fünf pro Linie und es werden meistens 10 Linien in y-Richtung gesprüht. Die motorisierten Verschiebebühnen haben eine Geschwindigkeit von rund $3 \times 10^{-4} \text{ m s}^{-1}$. Der Programmablauf des LabVIEW-Programms zur Steuerung der Verschiebebühnen ist in Abschnitt 3.8 aufgeführt.

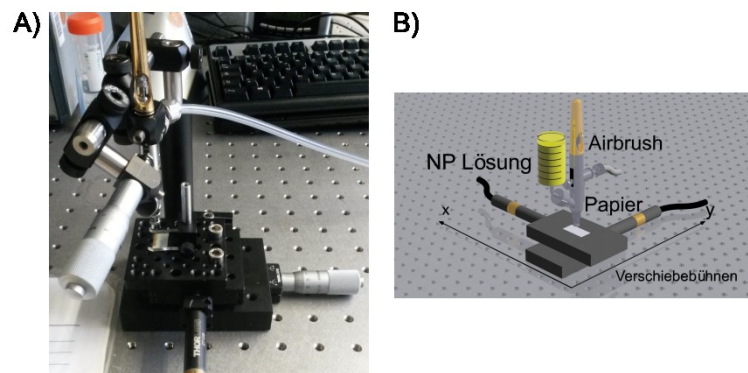


Abbildung 12 A) Sprühaufbau mit Airbrush und einer manuellen Verschiebebühne und B) Sprühaufbau mit Airbrush und zwei Computer-gesteuerten Verschiebebühnen.[139]

Zum Drucken der Suspension wurden zwei handelsübliche Drucker eingesetzt: ein Brother MFC-J470DW (Abbildung 13 A) und ein Epson EcoTank ET-2500 (Abbildung 13 B). Bei beiden Modellen handelt es sich um Piezodrucker. Die von den Druckern erzeugten Tropfen haben eine minimale Volumengröße von 3.0 pL beim Epson-Drucker und 1,5 pL beim Brother-Drucker. Sie verfügen über Druckköpfe mit 180 Düsen für Schwarz und 59 Düsen pro Farbe beim Epson-Drucker und 210 Düsen für Schwarz und jede Farbe beim Brother-Drucker. Die Drucker sind mit reinen und/oder mit Mischungen aus aufkonzentrierten Nanopartikelsuspensionen und weiteren Komponenten versehen, weitere Angaben dazu sind in der Auswertung zu finden. Der Druck erfolgt in Zyklen, es wird mehrmals auf ein und dieselbe Stelle gedruckt. Dazu werden die Papiere mehrfach in den Drucker eingelegt und dasselbe Muster wird auf das Papier gedruckt.

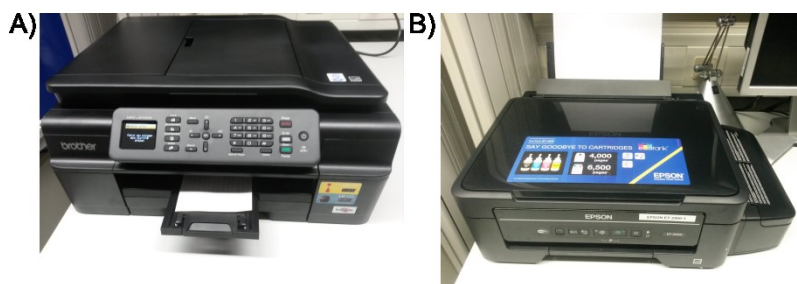


Abbildung 13 A) Brother MFC-J470DW Drucker und B) EcoTank ET-2500 Drucker.

3.5 Herstellung von Testpunkten und μ PADs

Die Teststreifen mit hydrophoben Barrieren wurden mit Hilfe eines kommerziellen Wachsdruckers (Xerox ColorQube 8580 AND) hergestellt. Dazu wurden die hydrophoben Barrieren am Computer gezeichnet. Als Zeichenprogramm wurde Inkscape verwendet. Das Programm wurde auf Millimeter eingestellt, es wurde schwarz als Farbe gewählt und das Bild wurde als PNG mit einer Auflösung von 600 dpi exportiert (Abbildung 14 A). Die verschiedenen Layouts werden bei der jeweiligen Auswertung aufgeführt. Die eingesetzten Papiere wurden auf die entsprechenden Größen der gezeichneten Bilder plus Rand zurechtgeschnitten und in die Fronteinlage eingelegt und einmal bedruckt (Abbildung 14 B). Die so erhaltenen Wachsbeschichteten Papiere wurden dann in einen Trockenschrank (Modell ED 53 der Firma Binder) gelegt und erwärmt (Abbildung 14 C). Für Vorversuche wurden Testpunkte (Durchmesser 2 mm bis 4 mm) und Kanäle (Breiten 1 mm bis 3 mm) verschiedener Größen bei unterschiedlichen Erwärmungszeiten und -temperaturen präpariert. Als Standardwerte für alle anderen Testsysteme auf Papier wurden 3 min bei 110 °C verwendet. Nach dem Abkühlen der Papiere wurde die Rückseite mit einem Tesafilm beklebt (Abbildung 14 C). Die Papiere wurden anschließend in handliche Teststreifen geschnitten, die verschiedene Anzahlen an Testpunkten und μ PADs aufweisen und in Glasflaschen unter normalen Raumbedingungen aufbewahrt. Die Beschichtung mit Nanopartikeln erfolgte erst kurz vor den SERS-Messungen. Dazu wurden die Nanopartikelsuspension mit einer Eppendorf-Pipette (Eppendorf Research® plus 0.5 – 10 μ L oder 0.1 – 2.5 μ L) in den nicht-hydrophoben Bereichen der Testsysteme aufgetragen (Abbildung 14 D).

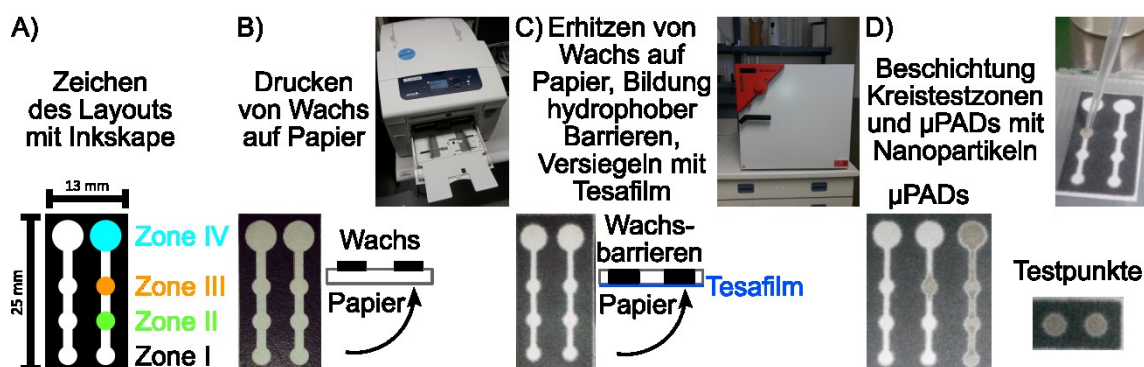


Abbildung 14 A) Zeichnen der hydrophoben Barrieren mit Inkscape, B) Drucken der Layouts mit dem Wachsdrucker, C) Aufheizen der Wachs-beschichteten Papiere im Trockenschrank und anschließendes Bekleben der Rückseite mit Tesafilm und D) Beschichten der Strukturen mit Nanopartikelsuspension.[68]

3.6 Raman- und SERS-Proben

Die Pulver der Analyten und die SERS-Suspensionen mit Analyt wurden auf Objektträgern am Raman-Mikroskop gemessen. Die SERS-Suspensionen wurden zusammengesetzt aus 89 %^V (= Volumenprozent) synthetisierter Nanopartikelsuspension, 1 %^V Natriumchlorid-Lösung ($c = 1 \text{ M}$) und 10 %^V Analytlösung ($c = 1 \times 10^{-5} \text{ M}$) oder 98 %^V Nanopartikelsuspension und je 1 %^V Natriumchlorid-Lösung ($c = 1 \text{ M}$) und Analyt-Lösung ($c = 1 \times 10^{-4} \text{ M}$).

Die SERS-Papierproben ohne hydrophobe Barrieren wurden mit Nanopartikeln beschichtet und getrocknet. Anschließend wurden sie standardmäßig mit 5 μL Analytlösung verschiedener Konzentration betropft und unter Raumbedingungen getrocknet.

Die SERS-Papierproben mit Testpunkten wurden standardmäßig mit 0,5 μL AgNP-3 (50 \times konzentriert) betropft und ohne Trocknen wurde direkt 0,5 μL Probelösung aufgetropft. Dann wurden die Proben 15 min unter Raumbedingungen getrocknet und dann gemessen.

Die μPADs wurden in drei Standardvarianten präpariert. Die erste Variante sind unbeschichtete μPADs , bei ihnen wird 0,5 μL Analytlösung auf die Zone II getropft und 30 min unter Raumbedingungen getrocknet. Die Trocknung unter Raumbedingung wird für alle hier beschriebenen Schritte der μPAD -Präparationen genutzt. Die Chromatographie im nächsten Schritt wird mit 5 μL Wasser, aufgetropft auf Zone I, durchgeführt und dann 60 min getrocknet. Im letzten Schritt wird die gesamte innere nicht-hydrophobe Fläche des μPADs mit AgNP-3 (50 \times konzentriert, $6 \times 0,5 \mu\text{L} = \text{Zone I, II, III und alle drei Kanäle} \ \& \ 1 \times 1,5 \mu\text{L} = \text{Zone IV}$)

von Zone I bis Zone IV betroffen. Die zweite Variante sind die Ein-Zonen-beschichteten μ PADs. Hier werden ebenfalls 0,5 μ L Probenlösung auf Zone II aber auch 0,5 μ L AgNP-3^{SW} (50 \times konzentriert) auf Zone III aufgetropft und 30 min getrocknet. Für die Chromatographie werden wieder 5 μ L Wasser auf Zone I aufgetropft und 60 min getrocknet. Hier werden im letzten Schritt fünfmal 0,5 μ L AgNP-3 (50 \times konzentriert) auf die Zone I, II und alle drei Kanäle verteilt und einmal 1,5 μ L auf Zone IV gegeben und alles 60 min getrocknet. Die dritte Variante sind voll beschichtete μ PADs. Bei ihnen wird zuerst das μ PAD mit AgNP-3 (50 \times konzentriert, 6 \times 0,5 μ L = Zone I, II, III und alle drei Kanäle & 1 \times 1,5 μ L = Zone IV, tropfen) vollbeschichtet und 60 min getrocknet. Dann wird in Zone II 0,5 μ L Probenlösung aufgetragen und 30 min getrocknet. Im letzten Schritt werden 5 μ L Wasser für die Chromatographie auf Zone I aufgegeben und 60 min getrocknet. Jeweils nach dem Trocknen des letzten Schritts wurden die SERS-Messungen der μ PADs in einem Linien-Scan in 1 mm Schritten durchgeführt (22 Messpunkte).

Die Abweichungen von den Standardpräparationen werden immer bei den jeweiligen Messungen vermerkt.

3.7 Raman- und SERS-Messsysteme

Für die Raman- und SERS-Messungen wurden drei verschiedene Systeme eingesetzt. Das erste Messsystem ist ein Raman-Mikroskop der Firma Horiba Jobin Yvon. Das LabRAM HR800 verfügt über drei verschiedene Anregungswellenlängen 532 nm (Frequenzverdoppelter Nd:YAG-Laser Dioden gepumpter Feststofflaser, 34 mW), 632,8 nm (Helium-Neon-Laser, \sim 9 mW) und 785 nm (Aluminiumgalliumarsenid-Laserdiode, \sim 33 mW) und verschiedene Objektive. Die genutzten Objektive sind 50 \times (NA = 0,75; LP = 2 μ m), 50 \times (NA = 0,55; LP = 1,2 μ m), 10 \times Objektiv (NA = 0,25; LP = 10 μ m) und 60 \times Immersionsobjektiv (NA = 1,20; LP = 1,5 μ m). Die Laser-Leistung auf der Probe wurde über den genutzten Laser und die eingestellte Abschwächung des Lasers eingestellt. Über die Software wurde neben der Laserabschwächung das Gitter, die Detektionszeit und die Anzahl der gemittelten Spektren eingestellt. Als Gitter stehen ein 300 Linien je mm und ein 1800 Linien je mm zur Verfügung und als Detektor wird ein mit flüssigem Stickstoff gekühlter CCD-Detektor verwendet. Die Werte für die **Laserwellenlänge** (= LWL), **Objektiv** (= OB), **Gitter** (= GT), **Detektionszeit** (DZ) und **Spektren-Mittelung** (= SPM) sind bei den jeweiligen Messungen angegeben. Des Weiteren verfügt das Mikroskop über eine x/y/z-Verhschiebebühne mit deren Hilfe Mappings von Oberflächen aufgenommen werden können und über eine Digitalkamera können Fotoaufnah-

men von den Proben erstellt werden. Zur Veranschaulichung des Mikroskopsystems ist in Abbildung 15 ein vereinfachtes Aufbauschema des LabRAM HR800 mit den wichtigsten Bestandteilen dargestellt.

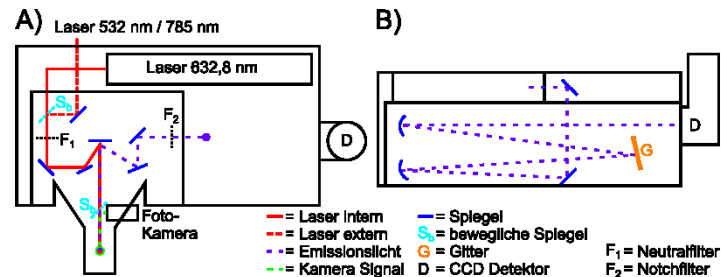


Abbildung 15 A) Innere Draufsicht auf das LabRAM HR800 und B) Innere Frontsicht des Gerätes.[140]

Als zweites Messgerät wurde ein Raman-System verwendet, das sowohl im Prozess- als auch im Forschungsbereich eingesetzt werden kann. Dabei handelt es sich um das RamanRxn1 der Firma Kaiser Optical Systems. Es ist mit einem 785 nm Laser ausgestattet, der einen Leistungsbereich von 50 mW bis 400 mW hat. Als Gitter kommt das HSG-785-LF und als Detektor eine Peltier-Luftgekühlte CCD Kamera zum Einsatz und als Messkopf wird der PhAT-Messkopf verwendet. Dieser Messkopf verfügt über einen Laser-/Detektionspunkt auf der Probe von 6 mm. In Abbildung 16 ist ein vereinfachter schematischer Aufbau des Gerätes mit den wichtigsten Bestandteilen dargestellt. Die Angaben zur **Laserleistung** (= LL), Detektionszeit und **Spektralen Summation** (= SPS) sind bei den jeweiligen Messungen zu finden.

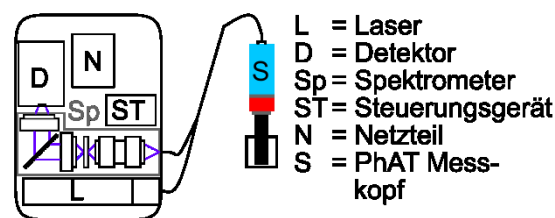


Abbildung 16 Vereinfachtes Schema vom RamanRxn1 mit den wichtigsten Bauelementen.[141]

Als drittes Messgerät wurde ein **Labormessaufbau** (= LMA) aufgebaut. Dieser Aufbau besteht im Wesentlichen aus einem 632,8 nm Helium-Neon-Laser, einem Laserstrahlteiler, verschie-

denen Linsen & Filtern, einem Spektrometer mit angeschlossener CCD-Kamera und einer manuellen Verschiebebühne. Die genauen Bezeichnungen der Bauteile sind in der Abbildung 17 vermerkt. Bei diesem Messaufbau wurde eine konstante Leistung von 26 mW auf der Probe bei einer Laserpunktgröße von ca. 1,3 mm im Durchmesser genutzt. Alle Messungen an diesem Aufbau sind Einzelspektrenmessungen, die sich nur im genutzten Gitter, der Detektionszeit und/oder der horizontalen Detektionsposition auf der Probe unterscheiden. Als Standard wurde eine Detektionszeit von 60 s, Spaltbreite von 150 μm und das 1800 L mm^{-1} GT verwendet.

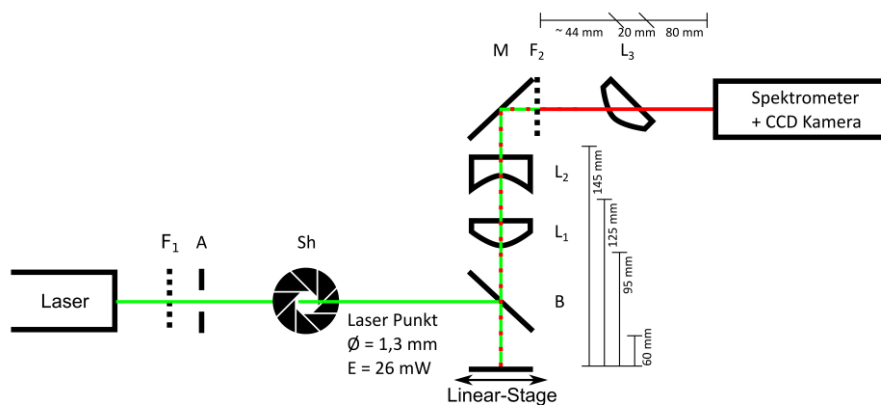


Abbildung 17 Schematische Darstellung des Labormessaufbaus (= LMA) mit einem Helium-Neon-Laser (Modell: 05-LHP-928, Melles Griot; Wellenlänge = 632,8 nm), F₁ (Laser Cleanup Filter, LL01-633-25, Semrock), A (Blende), Sh (Shutter), B (flacher Laser Strahlteiler, LPD02-633RU-25, Semrock), L₁ (plankonvexe Linse, f = 50 mm), L₂ (plankonkave Linse, f = -40 mm), M (runder Aluminium-geschützter Spiegel, PF10-03-G01, Thorlabs), F₂ (Notchfilter, NF03-633E-25, Semrock), L₃ (plankonvexe Linse, f = 100 mm) und Spektrometer (A-SR-303i-A, Shamrock 303i, Andor, Gitter: A-SR3-GRT-0300-0500/ A-SR-GRT-1800-FH/ A-SR3-GRT-2400-GH , CCD: DU420A-BV Peltier-Luft gekühlt, Andor). Der Laserpunkt auf der Probe beträgt ca. 1,3 mm im Durchmesser und die Laserleistung ist 26 mW.[142]

3.8 LabVIEW-Programme

In diesem Abschnitt werden die zwei genutzten LabVIEW-Programme vorgestellt. Das erste ist das Kontrollsystem für die Verschiebebühnen zur Steuerung der Verschiebebühnen wäh-

rend des Sprühprozesses. Das Frontpanel für die Einstellungen und der vereinfachte Programmablauf sind in Abbildung 18 dargestellt. Über die Kontrollelemente von Thorlabs können aber auch weitere Einstellungen an den Verschiebebühnen vorgenommen werden. Das Programm besteht aus einem Blockdiagramm Abbildung 85 im Anhang 6.2.

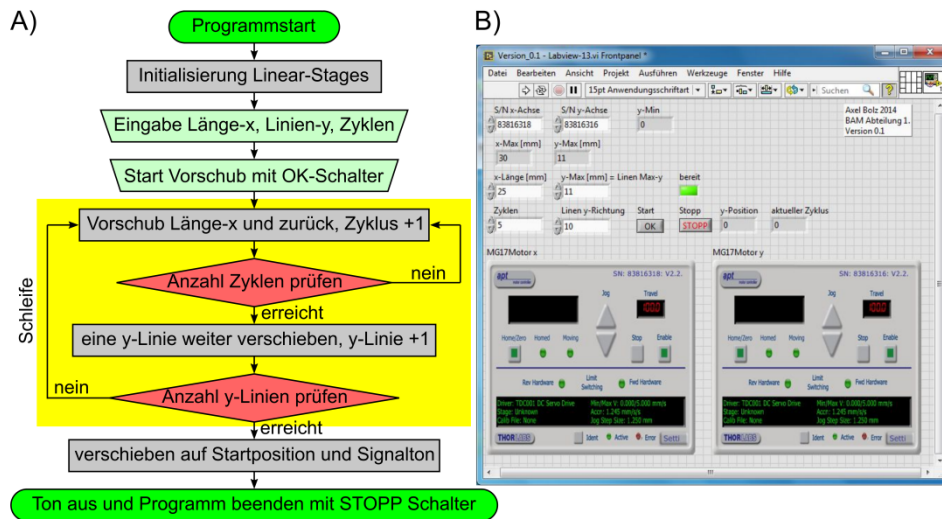
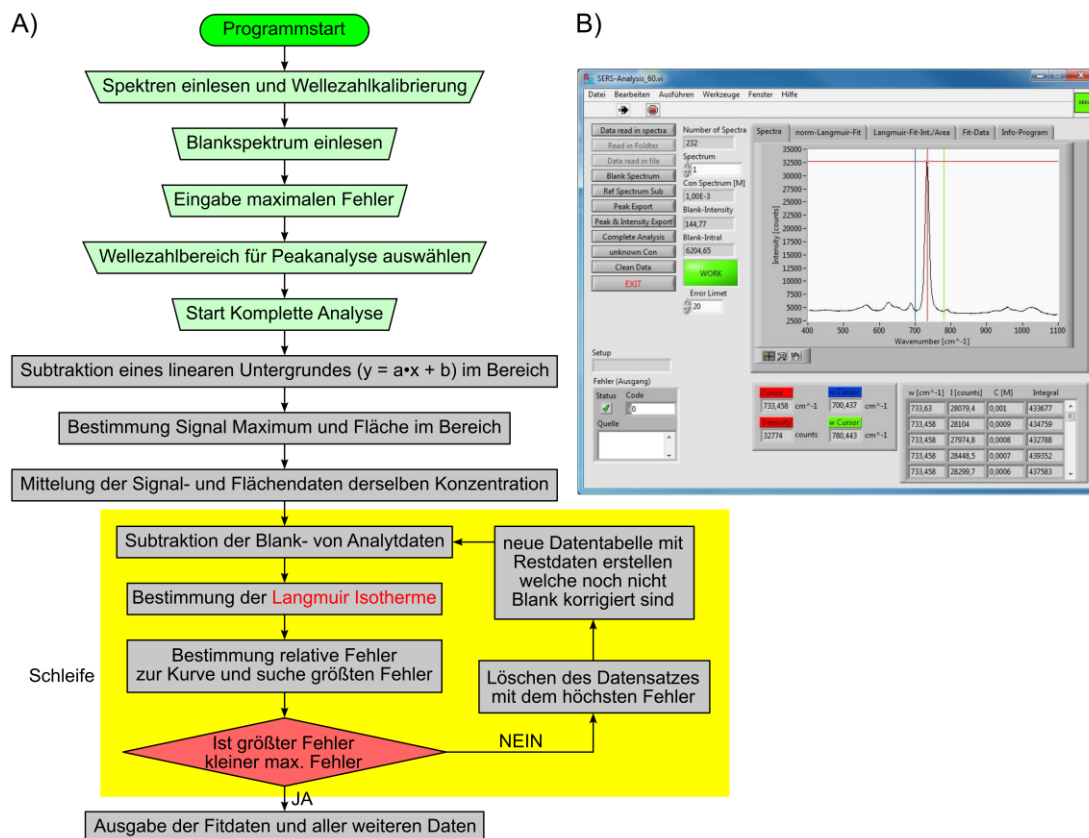


Abbildung 18 A) vereinfachter Programmablaufplan und B) Frontpanel des Verschiebebühnen-Steuerungsprogramms (LabVIEW 2013/ LabVIEW 2014).

Das zweite Programm dient der Analyse von gemessenen Daten. Hier soll nur der vereinfachte Programmablaufplan für eine Fit-Berechnung mit diesem Tool (Name: LabVIEW-Analyseprogramm; Dateiname: SERS_0.2.exe) und das Frontpanel des Programms dargestellt werden (Abbildung 19). Das Tool verfügt noch über weitere Funktionen und kann auch nur für Teilanalysen verwendet werden. Im Programm selbst kann eine Wellenzahlkalibrierung eingegeben werden oder die Daten der Spektren können verwendet werden. Die Bestimmung für eine neue Wellenzahlkalibrierung wird mit einem externen Programm (Origin) durchgeführt. Ein Teil der Blockdiagramme dieses Programms sind im Anhang 6.2 aufgeführt.



Es ist noch ein drittes Programm verwendet worden, welches von Dr. Thomas Schmid erstellt und zu Verfügung gestellt wurde. Dieses Programm ist für die Auswertungen von Raman-Mappings am LabRAM Raman-Mikroskop genutzt worden. Das Programm hat den Namen Ramapper_1_5 (LabVIEW 2012).

4 Ergebnisse und Diskussion

4.1 Auftragung und Detektion

Der erste Schritt zu papierbasierten Analysesystemen mit SERS-Detektion ist die Präparation von Papier-SERS-Substraten und deren Messung. Zu diesem Zweck wurden verschiedene Präparationsmethoden und Detektionssysteme getestet. Bei allen untersuchten Präparationsmethoden wurden Paperoberflächen mit Nanopartikelsuspensionen beschichtet.

4.1.1 Nanopartikelsuspensionen für Auftropfen ohne hydrophobe Barrieren und Sprühen

In diesem Kapitel werden die drei Nanopartikelsuspensionen AgNP-1, AgNP-2 und AuNP-1 verwendet, zu denen zunächst Kenngrößen zusammengestellt wurden. Bei allen drei Nanopartikelsuspensionen handelt es sich um Metallnanopartikelsuspensionen, die durch Reduktion von Gold- oder Silber-Präkursorern in wässriger Lösung hergestellt wurden. Die Nanopartikel in allen drei Suspensionen sind mit Citrat stabilisiert und wurden unter normalen Raumbedingungen hergestellt, gelagert und verwendet. In Abbildung 20 ist ein Foto jeweils eines Batches der drei Suspensionen zu sehen und je ein Extinktionsspektrum eines jeden Nanopartikeltyps. Die Extinktionsspektren sind zur besseren Vergleichbarkeit auf ihr Maximum im betrachteten Wellenlängenbereich normiert. Die beiden Silbernanopartikelsuspensionen haben ihre Maxima bei 399 nm und 410 nm und die Goldsuspension hat ihr Maximum bei 526 nm (Abbildung 20). Die jeweiligen Extinktionsbanden der Maxima sind die plasmonischen Resonanzen der Nanopartikel in Suspension.

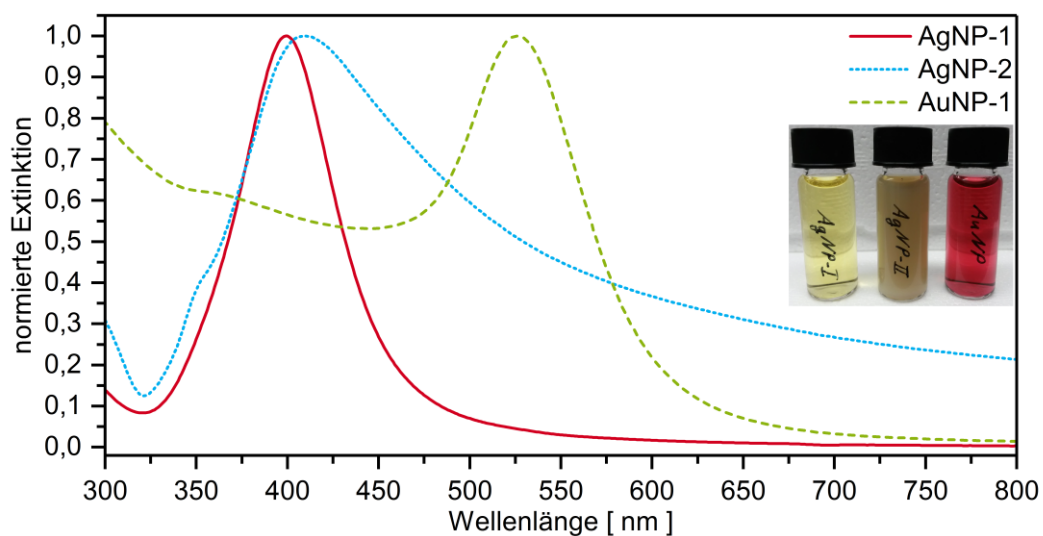


Abbildung 20 Extinktionsspektren der drei Nanopartikelsuspensionen und ein Foto dieser Suspensionen: AgNP-1 (= AgNP-I; rote durchgezogene Linie; $\lambda_{\max} = 399 \text{ nm}$), AgNP-2 (= AgNP-II; blaue gepunktete Linie; $\lambda_{\max} = 410 \text{ nm}$) und AuNP-1 (= AuNP; grüne gestrichelte Linie; $\lambda_{\max} = 526 \text{ nm}$).[139]

Zur Bestimmung der mittleren Größe der Nanopartikel und deren Größenverteilung in Suspension wurden TEM-Bilder der getrockneten Suspension ausgewertet. In erster Näherung wurden die Nanopartikel in diesen Suspensionen als sphärische Partikel angenommen. Der sphärische Durchmesser dieser Partikel wurde über die Flächen der Nanopartikel in den TEM-Bildern berechnet. Dazu wurde die Fläche der Nanopartikel in den TEM-Bildern mit ImageJ bestimmt und aus diesen wurde über die Flächenformel des Kreises der Durchmesser errechnet. Aus den bestimmten Durchmessern wurde der arithmetische Mittelwert über alle detektierten Nanopartikel berechnet. Damit ergaben sich für die Nanopartikel der Suspensionen AgNP-1, AgNP-2 und AuNP-1 die Durchmesser von 9 nm, 47 nm und 26 nm. In den Histogrammen in Abbildung 21 sind die zu diesen Durchmessern gehörenden Größenverteilungen der Suspensionen zu sehen. Wie leicht zu erkennen ist, zeigen die Histogramme der AgNP-1 und AuNP-1 Suspensionen schmale Verteilungen im Vergleich zu der Suspension AgNP-2.

Aus den so erhaltenen mittleren Größendaten und den eingesetzten Metallmengen und Volumina für die Synthese der Suspensionen lässt sich eine genäherte Nanopartikelkonzentration der einzelnen Suspensionen berechnen. Dabei wird davon ausgegangen, dass die Suspensionen nur aus sphärischen Nanopartikeln mit den bestimmten mittleren Durchmessern bestehen. Damit ergeben sich nach Gl. 45 und Gl. 46 für die Konzentrationen der Suspensionen die abgerundeten Werte von $c = 10^{15} \text{ NP L}^{-1}$ für AgNP-1, $c = 10^{14} \text{ NP L}^{-1}$ für AgNP-2 und $c = 5 \times 10^{14} \text{ NP L}^{-1}$ für AuNP-1 (Tabelle 4).

$$\text{Gl. 45} \quad n_{\text{ein NP}} \left[\frac{\text{mol}}{\text{NP}} \right] = \frac{d_{\text{NP}}^3 \pi \rho_{\text{Metall}}}{6 M_{\text{Metall}}}$$

$$\text{Gl. 46} \quad c_{\text{NP-Susp}} \left[\frac{\text{NP}}{\text{L}} \right] = \frac{c_{\text{Metall}} V_{\text{Metall}}}{n_{\text{ein NP}} V_{\text{ges}}}$$

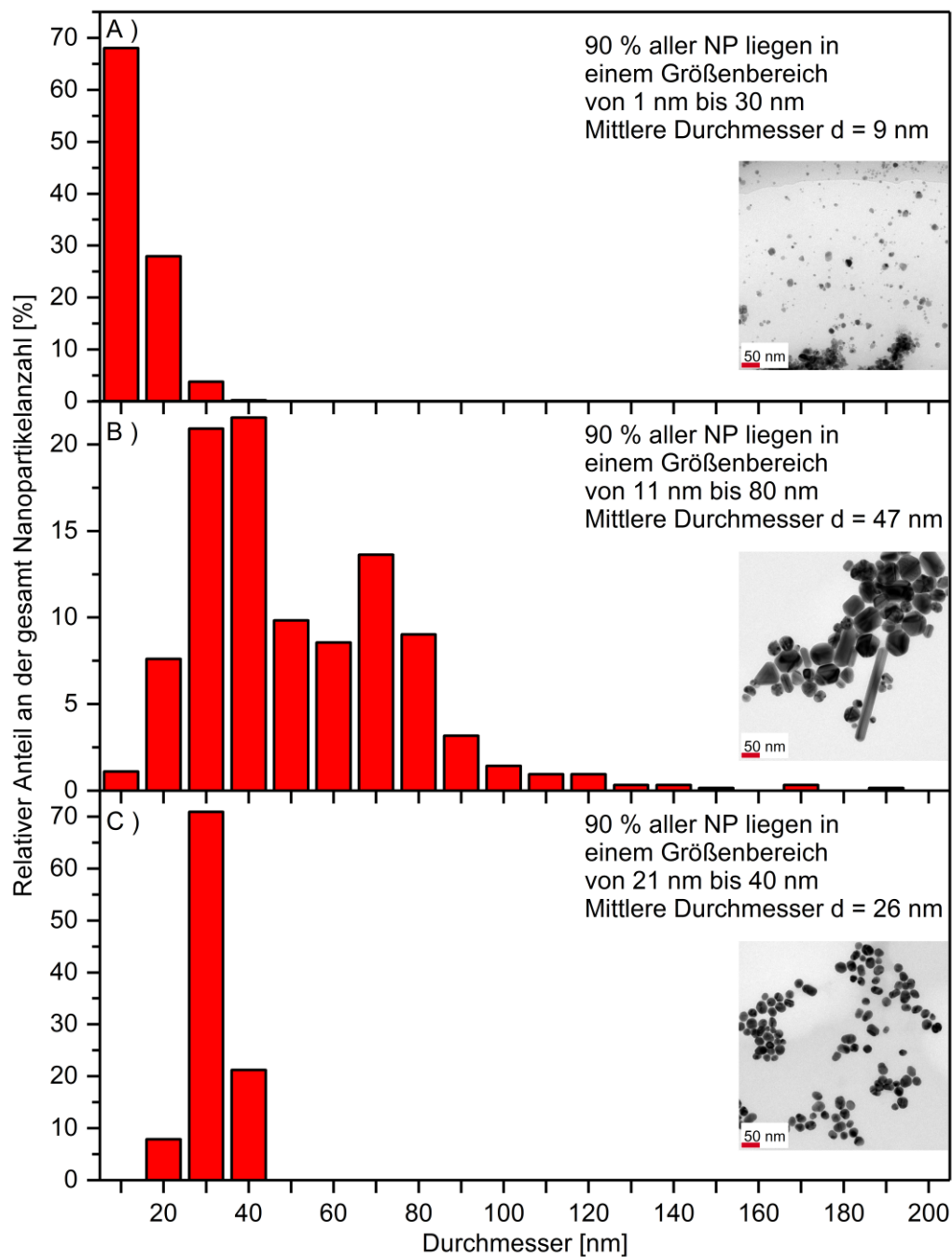


Abbildung 21 Histogramme der Nanopartikelsuspensionen AgNP-1 (A), AgNP-2 (B) und AuNP-1 (C) mit jeweils einem Beispiel-TEM-Bild der getrockneten Suspensionen und der Angabe des Größenbereiches, in dem sich 90 % aller Nanopartikelgrößen befinden.[139]

Tabelle 4 Ausgangswerte und Ergebnisse für die Berechnung der Konzentrationen der Nanopartikelsuspensionen AgNP-1, AgNP-2 und AuNP-1.

	AgNP-1	AgNP-2	AuNP-1
NP Durchmesser (d) [nm]	9	47	26
Dichte Metall (ρ) [g cm ⁻³]	10,5	10,5	19,3
Molare Masse (M) [g mol ⁻¹]	107,87	107,87	196,97
$c_{\text{NP-Präkursor}}$ [M]	$1,1 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$2,56 \cdot 10^{-2}$
$V_{\text{NP-Präkursor}}$ [mL]	330	300	9
V_{gesamt} [mL]	339	220	321
$n_{\text{ein NP}}$ [mol NP ⁻¹]	$3,7 \cdot 10^{-20}$	$5,3 \cdot 10^{-18}$	$9,0 \cdot 10^{-19}$
$c_{\text{NP-Susp}}$ [NP L ⁻¹]	$2,9 \cdot 10^{15}$	$2,6 \cdot 10^{14}$	$8,0 \cdot 10^{14}$
gerundet $c_{\text{NP-Susp}}$ [NP L ⁻¹]	$1 \cdot 10^{15}$	$1 \cdot 10^{14}$	$5 \cdot 10^{14}$

In einer Voruntersuchung wurden von diesen Suspensionen die Signalintensitäten eines Analyten verglichen. Dafür wurde Rhodamin 6G als Analyt verwendet und den drei Suspensionen zugesetzt und gemessen (Abbildung 22 A). Die Spektren wurden am Raman-Mikroskop (LabRAM HR800) aufgenommen. Dabei zeigt sich, dass die Goldnanopartikel das schwächste Signal liefern. Die beiden Silbersuspensionen zeigen hingegen wesentlich stärkere Intensitäten. Die Unterschiede in Abbildung 22 A bei den Intensitäten zwischen Gold- und Silbernanopartikeln sind dabei auf die Metalle zurückzuführen.[143] Damit sind für Rhodamin 6G Silbernanopartikel besser geeignet als Goldnanopartikel, um ein intensives Signal zu bekommen. Zusätzlich zeigt sich, dass die SERS-Messungen in Suspension starken Schwankungen in der Signalintensität unterliegen, beispielsweise gezeigt in Abbildung 22 B, wo drei Messungen ein und derselben Probe (AgNP-1) dargestellt sind. Die Unterschiede in den Signalintensitäten in der Probe kommen wahrscheinlich in erster Linie von der Diffusion der Agglomerate und Nanopartikel in der Suspension.

Die beobachteten Signalschwankungen in einer Probe bei Lösungsmessungen machen SERS-Intensitätsanalysen unter diesen Bedingungen extrem schwierig. Daher soll in den nächsten Schritten auf festen Substraten ohne Diffusion gemessen werden, bei welchen die beschriebenen Suspensionen aufgetragen werden.

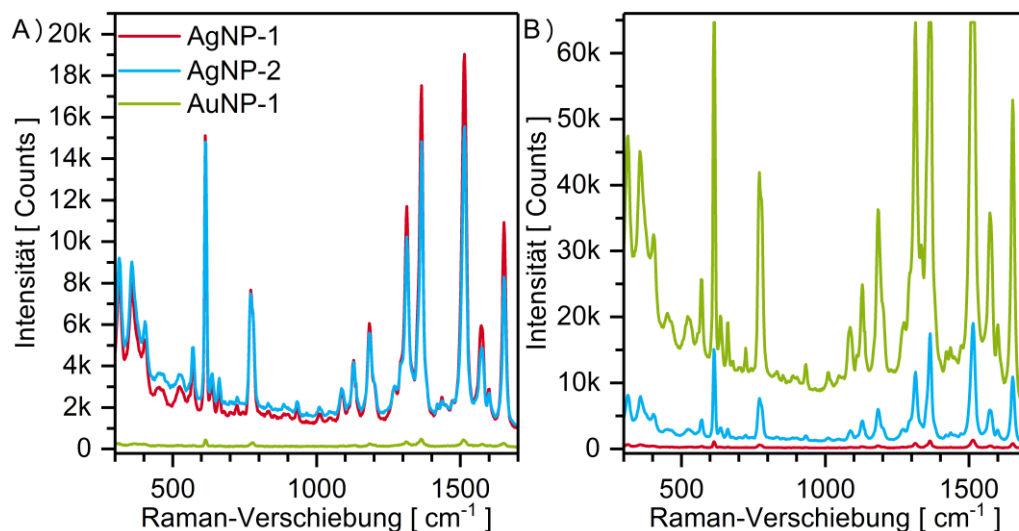


Abbildung 22 SERS Spektren von Rhodamin 6G ($c = 10^{-6}$ M) gemessen in Nanopartikel-suspension am LabRAM HR800. Die Suspensionen wurden mit Natriumchlorid voraggregiert und dann mit Rhodamin 6G Lösung versetzt, um auf die angegebene Konzentration zu kommen. A) zeigt je ein Spektrum von AgNP-1 (rote Linie), AgNP-2 (blaue Linie) und AuNP-1 (grüne Linie) mit R6G und denselben Messbedingungen (LWL = 633 nm; OB = 60× Immersion; DZ = 1 s; SPM = 1; GT = 300 L mm⁻¹; LAS = 90%). B) zeigt drei Messungen von AgNP-1 derselben Probe und unter den gleichen Messbedingungen wie in A. Das intensivste Spektrum in B zeigt sogar eine Detektorsättigung bei den gegebenen Bedingungen.[139]

4.1.2 SERS-Papierproben mit Auftropfen ohne hydrophobe Barrieren und Sprühen

Mit den drei dargestellten Nanopartikelsuspensionen wurden Beschichtungstests von Papier durchgeführt. Die hierfür verwendeten Methoden sind das Auftropfen, das Sprühen mit einer Airbrush und das Drucken der Suspensionen auf Papier. Hier sollen zuerst das Auftropfen und Sprühen auf Papieren ohne hydrophobe Barrieren verglichen werden. Die einfachste aller drei Methoden ist das Auftropfen. Dabei werden die Nanopartikelsuspensionen mit einer Pipette direkt auf das Papier getropft. Das Problem, das sich dabei ergibt, ist, dass es schwierig ist, die Verteilung der Nanopartikelsuspension auf dem Papier zu kontrollieren, da sich die Suspension unkontrolliert auf dem Papier verteilt (Abbildung 23). Dies lässt nur eine sehr eingeschränkte Möglichkeit der Kontrolle der Nanopartikelmenge pro Fläche zu. Des Weiteren zeigt sich der sogenannte Kaffeering-Effekt in unterschiedlicher Ausprägung bei den Proben (Abbildung 23). Der Kaffeering-Effekt entsteht beim Trocknen von Lösungen oder Suspensi-

onen auf Oberflächen. Als Ergebnis dieses Effektes wird bei getrockneten Flecken ein Konzentrationsgradient der gelösten oder dispergierten Teilchen vom Zentrum in Richtung Rand des Fleckes beobachtet. Die Konzentration nimmt von innen nach außen zu.[66, 144] Das ist besonders gut auf den Fotos Abbildung 23 A und B zu erkennen. Ein weiteres Problem, welches bei allen Auftragungsmethoden auftreten kann, ist, dass sich die Zellulosepapiere beim Trocken verformen (wellen) können. Dieses Problem wird bei dem hier benutzten Glasfaserpapier nicht beobachtet.

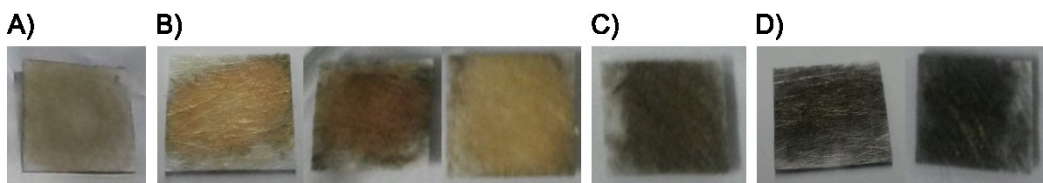


Abbildung 23 SERS-Papiersubstrate hergestellt mit der Auftropf-Methode auf Papieren der Größe 1x1 cm. A) PP = 390; AgNP-1 15x kon.; 3x 30 μL , B) PP = 8964; AgNP-1 15x kon.; 3x 34 μL oder 30 μL , C) PP = 8964; AgNP-2 15x kon.; 3x 34 μL , D) PP = 8964; AuNP-1 15x kon.; 3x 34 μL oder 30 μL . Für eine Probe mit 3x 34 μL und 15x kon. NP-Suspension ergibt sich ein unkonzentriertes NP-Suspensionsvolumen pro Fläche von ca. 1,5 mL cm⁻².

Um eine bessere Kontrolle über die Verteilung der Suspension auf dem Papier zu bekommen, wurde im nächsten Schritt eine Sprühmethode getestet. Der erste Aufbau ist in Abbildung 12 A gezeigt. Mit ihm ist es möglich, Linien von Nanopartikeln auf einem Papier zu deponieren. Über die Anzahl, wie oft eine Linie gezogen wird, kann die Menge an Nanopartikeln auf dem Papier variiert werden. Zudem wird die Nanopartikelmenge über die Sprühdosis gesteuert, welche über die Öffnung der Airbrush und den angeschlossenen Druck verändert werden kann. In diesem Aufbau wird der Vershub in y-Richtung über eine manuelle Verschiebebühne ausgeführt und in x-Richtung mit einer motorisierten Verschiebebühne. Mit diesem Aufbau wurden ein Teil der Papier-SERS-Proben hergestellt. Für eine weitere automatisierte Herstellung der Teststreifen wurde die manuelle Verschiebebühne in y-Richtung ebenfalls durch eine motorisierte Bühne ersetzt und beide Bühnen wurden über einen Computer gesteuert. Zudem wurde ein größerer NP-Suspensionstank angebracht. Somit musste nur von Zeit zu Zeit die Sprühdosis überprüft werden. Dazu wurde am Ende einer Linie ein Papier kurz unter die Airbrush gehalten und ein Punkt gesprüht und mit einem Punkt vom Anfang verglichen. Waren die Punkte nach optischem Ermessen gleich, wurde ohne Veränderung der Öffnung der Airbrush weiter

gesprüht. War der Punkt kleiner, dann wurde die Öffnung leicht vergrößert, um wieder einen gleich großen Punkt auf dem Papier zu erhalten. Diese Veränderung während des Sprühprozesses ist nötig, da sich mit der Zeit immer Nanopartikel an den Wänden der Airbrush und der Nadel der Airbrush ablagern. Daher nimmt mit der Betriebsdauer der Airbrush auch die Sprütrate ab und es muss nachreguliert werden. Am Ende eines jeden Präparationstages sollte die Airbrush gut mit Wasser durchgespült werden und von Zeit zu Zeit auch komplett gereinigt werden. Dennoch kann mit dieser Methode eine homogenere Beschichtung erreicht werden, als mit dem einfachen Auftropfen. Beispielproben der Sprühhmethode sind in Abbildung 24 zu sehen. Wie eben beschrieben, wurde die Flussrate rein optisch während des Sprühprozesses über einen Vergleich von gesprühten Punkten bestimmt. Für die Berechnung der Flussraten wurde am Ende eines Sprühvorgangs das verbrauchte Suspensionsvolumen gemessen und für die Berechnung genutzt. Die benötigte Präparationszeit für einen Papierstreifen bei dieser Methode ergibt sich aus der Länge der x-Richtung, der Anzahl der Zyklen pro Linie und der Anzahl der y-Linien bei dem Sprühprozess. Für ein Papier, das mit 5 Zyklen pro Linie, 10 Linien in y-Richtung und mit einer Linienlänge von 25 mm besprüht wird, benötigt der Aufbau ca. 2:20 h. Mit diesen Einstellungen und einem verbrauchten Suspensionsvolumen von 3 mL ergibt sich eine Sprütrate von $3,6 \cdot 10^{-4} \text{ mL s}^{-1}$ und daraus ergibt sich ein Suspensionsvolumen pro Fläche von $1,2 \text{ mL cm}^{-2}$. Die angegebenen Längen resultieren aus rein praktischen Gründen des Aufbaus. Es wurde über die Halterung gesprüht, damit bei einem Richtungswechsel und bei Vorschub auf die nächste y-Linie nur dann das Papier besprüht wird, wenn die Verschiebebühne in gleichmäßiger Bewegung in x-Richtung ist. Zudem konnte so an den Enden in x-Richtung die Sprütrate geprüft werden. Zusätzlich wurde über den benötigten Bereich in y-Richtung gesprüht, damit die Sprühkanten nicht auf den späteren Testchips sind.

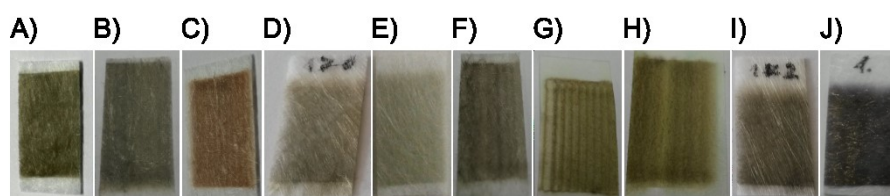


Abbildung 24 Beispiel-Proben hergestellt mit der Sprühhmethode A-D) PP = 8964 & NP = AgNP-1, E-F) PP = 8964 & AgNP-1 + NaCl, G-H) PP = 390 & AgNP-1 ohne & mit NaCl, I) PP = 8964 & AgNP-2 und J) PP = 8964 & AuNP-1

Von den beschichteten Papieren wurden exemplarisch Extinktionsspektren (Umrechnung aus Reflektionsspektren) und SEM-Bilder aufgenommen. Dabei zeigt sich, dass die Extinktionsspektren der Nanopartikel auf den Papieren einen relativen Anstieg der Extinktion im Bereich vom Extinktionsmaximum bis hin zum Ende des Messbereiches (800 nm) zeigen (Abbildung 25 A-C). Darüber hinaus ist eine leichte Verschiebung der Extinktionsmaxima zu größeren Wellenlängen zu sehen. Am deutlichsten ist dieser Effekt bei den AgNP-1 beschichteten Papieren zu sehen. Die Verschiebung und der relative Anstieg der Extinktion bei Wellenlängen größer des Extinktionsmaximums kann auf die Bildung von Agglomeraten von Nanopartikeln auf den Papieren zurückgeführt werden.[72, 145] Diese Agglomerate sind gut in den SEM-Bildern Abbildung 25 D-G zu sehen. Der Unterschied zwischen Glasfaser- und Zellulosepapieren ist in den Extinktionsspektren nicht besonders groß und zeigt keine Unterschiede.

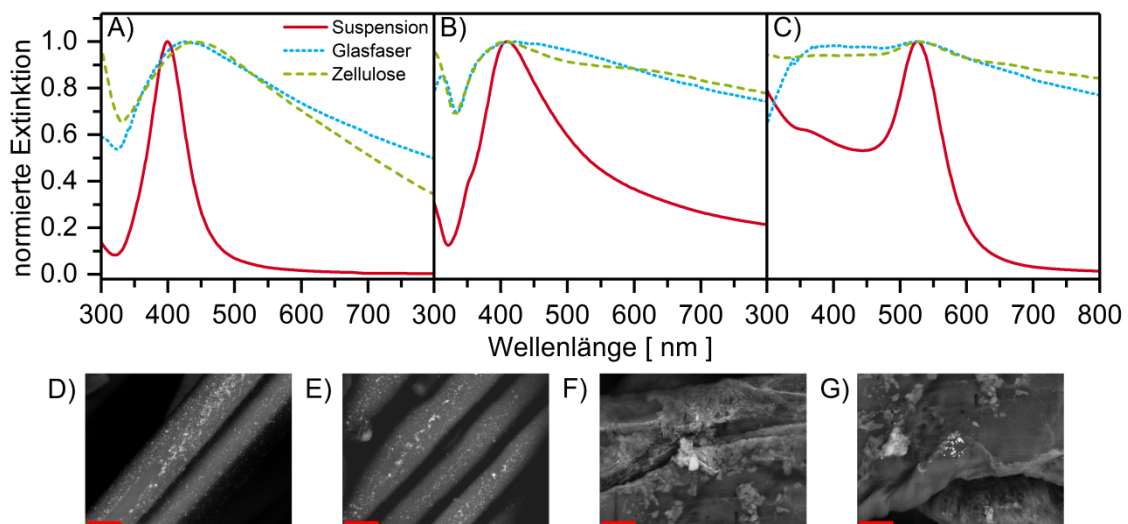


Abbildung 25 Extinktionsspektren von A) AgNP-1, B) AgNP-2 und C) AuNP-1 in Suspension (rote durchgezogene Linie) oder auf Papier, Glasfaserpapier (PP = 8964, blau gepunktete Linie) oder Zellulosepapier (PP = 390, grün gestrichelte Linie). Die Papiere sind mit der Sprühmethode beschichtet. D & E (Glasfaserpapier) und F & G (Zellulosepapier) zeigen Beispiele von SEM-Bildern solcher Papiere. Der Maßstabsbalken in den SEM-Bildern ist je 5 μm groß.[139]

Der Vergleich der Extinktionsspektren und der SEM-Bilder zwischen Auftropfen und Sprühen zeigt einen klaren Unterschied auf dem Glasfaserpapier für die AgNP-1. Der stärkere relative Anstieg der Extinktion ist beim Auftropfen im Bereich um 600 nm. Dieser gründet sich sehr

wahrscheinlich auf die größeren Agglomerate, die in den SEM-Bildern in Abbildung 26 D-E zu sehen sind.

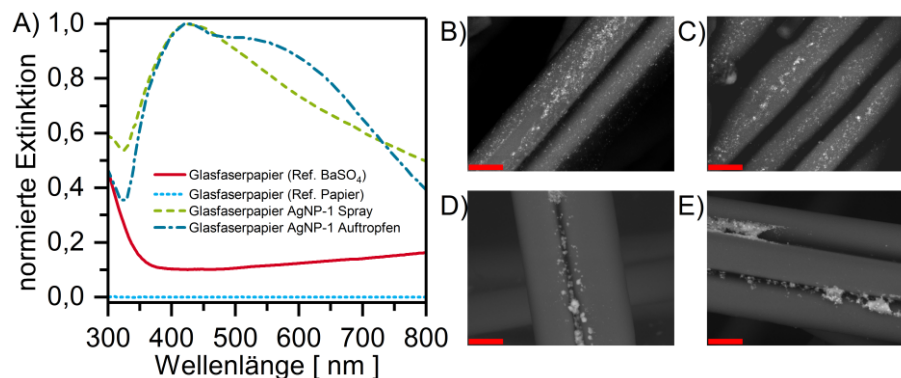


Abbildung 26 A) Extinktionsspektren von Glasfaserpapier (8964) ohne Beschichtung mit BaSO₄ als Referenz (rote durchgezogene Linie; nicht normierte Extinktion), mit Glasfaserpapier als Referenz (8964; blau gepunktete Linie; nicht normierte Extinktion), mit AgNP-1 Beschichtung durch Sprühen (grün gestrichelte Linie; Ref. 8964) oder durch Auftropfen (blaue Strich-Punkt Linie; Ref. 8964). B bis E SEM-Bilder von beschichteten Proben, der Maßstabsbalken in den Bildern ist 5 µm. B & C sind mit der Sprühhmethode und D & E mit der Auftropf-Methode hergestellt.[139]

Werden Raman-Messung an unbeschichteten Zellulosepapieren und Glasfaserpapieren durchgeführt, zeigt sich, dass Zellulosepapiere einen Fluoreszenzuntergrund bei der Anregung mit 633 nm zeigen, der mit der Zeit abnimmt. Im Gegensatz dazu zeigt Glasfaserpapier einen stabilen und meist niedrigeren Untergrund. Bei nicht so stark beschichteten Papieren, hellerer Beschichtungsfarbe und einer Laserwellenlänge von 785 nm zeigen sich ebenfalls Unterschiede, welche aber geringer sind (Abbildung 27). Auch hier ist der Untergrund beim Glasfaserpapier wieder geringer als beim Zellulosepapier und das Glasfaserpapier zeigt einen annähernd gleich intensiven Untergrund über eine längere Bestrahlungszeit (Abbildung 27). Daher wurde sich für die nächsten Schritte zunächst auf die Messungen von beschichteten Glasfaserpapieren als Alternative zu den sonst üblichen Zellulosefaserpapieren beschränkt.

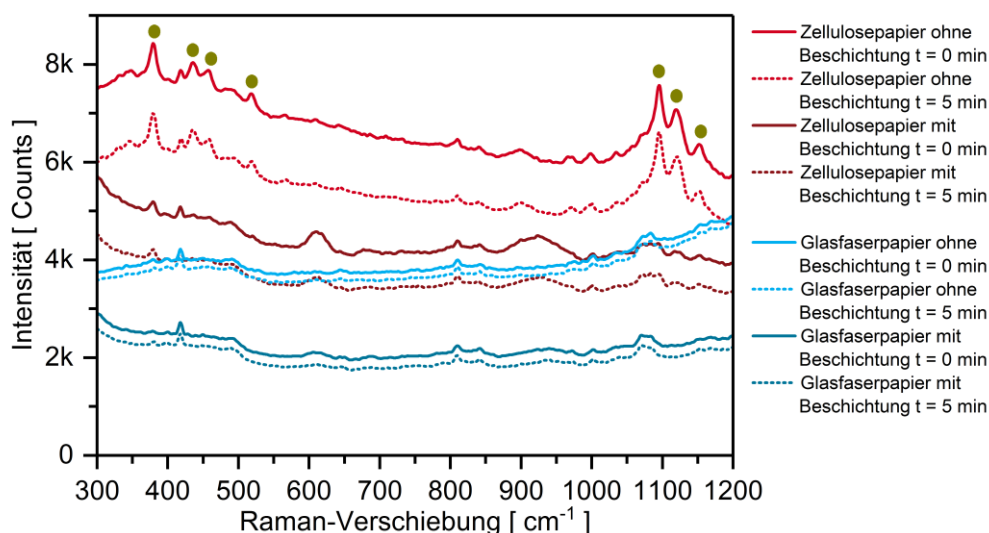


Abbildung 27 Raman-Spektren der Papieruntergründe. Die Beschichtung ist mit der Sprühmethode hergestellt, hellere Beschichtungsfarbe (PP = 390 & 8964; $V_{\text{NP-390}} = 2,5 \text{ mL}$ & $V_{\text{NP-8964}} = 2,8 \text{ mL}$; AgNP-1; $Z = 5$). Messung am RamanRxn1 (LWL = 785 nm; DZ = 20 s; SPM = 3; LL = 300 mW; LP d = 6 mm) eine Anfangsmessung ($t = 0 \text{ min}$) und eine nach 5 min Bestrahlung. Die braunen Punkte markieren Raman-Banden der Zellulose.[139]

4.1.3 SERS-Messungen der Auftropf- und Sprühproben ohne hydrophobe Barrieren

Nach den Voruntersuchungen zur Beschichtung soll nun verglichen werden, welche Kombination aus Messsystem, Auftragungsmethode und Nanopartikeln die geringste relative Standardabweichung für Messungen ergibt und damit eine gute Reproduzierbarkeit für Proben, die am selben Tag hergestellt werden. Dazu wurde Adenin als Analytmolekül verwendet und die Raman-Bande der Ringatemschwingung um die 735 cm^{-1} in den Spektren ausgewertet (Abbildung 28 A). Es wurden je Nanopartikelsuspension und Auftragungsmethode zwei SERS-Papiersubstrate hergestellt, aus denen je vier SERS-Testchips der Größe $4 \times 4 \text{ mm}$ ausgeschnitten wurden. Auf diese wurden $5 \mu\text{L}$ Adenin-Lösung der Konzentration 10^{-4} M gegeben und getrocknet. Gemessen wurden sie mit dem Horiba Raman-Mikroskop (LabRam HR800) und dem RamanRxn1. Aus den jeweils acht Spektren wurde die relative Standardabweichung einer jeden Kombination bestimmt. Im Diagramm in Abbildung 28 A sind die daraus resultierenden Werte aufgeführt. Das RamanRxn1-System mit dem PhAT-Messkopf zeigt geringe RSD als das Mikroskop. Das kann auf den größeren Laser-/Detektionspunkt auf der Probe zurückgeführt werden, da sich dadurch eine Mittelung der SERS-Signalintensitäten über die gesamte Fläche des SERS-Testchips ergibt (Abbildung 28 B) und zudem die Höhen-

fokussierung geringer ausgeprägt ist als beim Raman-Mikroskop. Somit ergeben sich reproduzierbarere Messungen mit einem größeren Laser-/Detektionspunkt und einer geringen Höhenauflösung. Hingegen ist es mit dem Raman-Mikroskop möglich, die Struktur der Papiere aufzulösen (Abbildung 29). Hier zeigen sich indirekt die Höhenunterschiede und direkt die Konzentrationsinhomogenitäten der Nanopartikel in der Mikrometerskala auf dem Papier (Abbildung 29). Bei den Auftragungsmethoden werden beim Sprühen mit AgNP-1 und AuNP-1 kleinere und bei AgNP-2 etwa gleichgroße RSD erreicht. Die Sprühhmethode zeigt damit eine bessere Reproduzierbarkeit für Proben eines Tages als die Auftropfmethode ohne hydrophobe Barrieren. Bei den Nanopartikeln zeigt sich bei diesen Messreihen, dass AgNP-1 die niedrigste RSD von 11 % hatte. Daher werden im Folgenden erstmal nur Messungen mit dem Glasfaserpapier, der Sprühhmethode und den AgNP-1 am RamanRxn1 durchgeführt. Der Vergleich der RSD der Intensitäten und der Flächen der Peaks zeigt keine signifikanten Unterschiede. Somit können für SERS-Messungen von Einzelkomponenten mit gut separierten Banden einfach nur die Intensitäten der SERS-Banden ausgewertet werden. Messungen zwischen verschiedenen Präparationstagen zeigen hingegen höhere Signalintensitätsunterschiede.

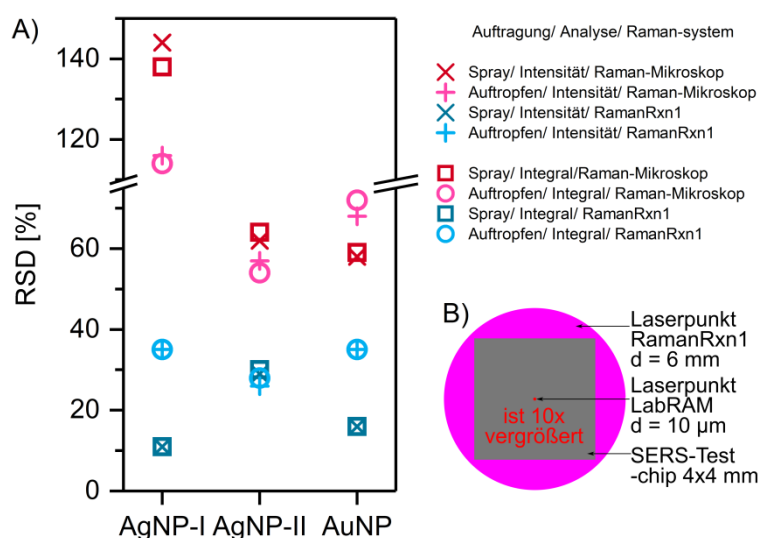


Abbildung 28 A) RSD der betrachteten Kombinationen. Auswertung der Ringatemschwingung (um 735 cm^{-1}) von Adenin ($c = 10^{-4} \text{ M}$; $V = 5 \text{ µL}$). Proben hergestellt mit Auftropfmethode ($V = 34 \text{ µL}$; 15 x con.; 3x mal) und dem Sprühaufbau aus Abbildung 12 A ($Z = 3$) auf Glasfaserpapier (PP = 8964). Messparameter des Raman-Mikroskop und des RamanRxn1 sind: LWL = 633 nm ; $DZ = 4 \text{ s}$; $SPS = 3$; $OB = 10\times$; $LP \text{ d} = 10 \text{ µm}$; $GT = 300 \text{ L mm}^{-1}$; $LAS = 90\%$ und $LWL = 785 \text{ nm}$; $DZ = 20 \text{ s}$; $SPM = 3$; $LL = 200 \text{ mW}$; $LP \text{ d} = 6 \text{ mm}$. Die Auswertung der Daten erfolgt in einem Bereich von 710 cm^{-1}

bis 770 cm^{-1} . Zuerst wird eine Untergrundkorrektur durchgeführt (Origin 9G → Basislinie subtrahieren → Endpunkte gewichtet) und dann werden das Maximum und das Integral im betreffenden Bereich bestimmt. Die Berechnung der RSD ist in Abschnitt 2.8 aufgeführt. Aufgetropfte Proben aller drei Nanopartikelsuspensionen und gesprühte Proben AuNP-1 gemessen am RamanRxn1 zeigen einen Vershub der Ringatemschwingung zu einer höheren Raman Verschiebung.[139]

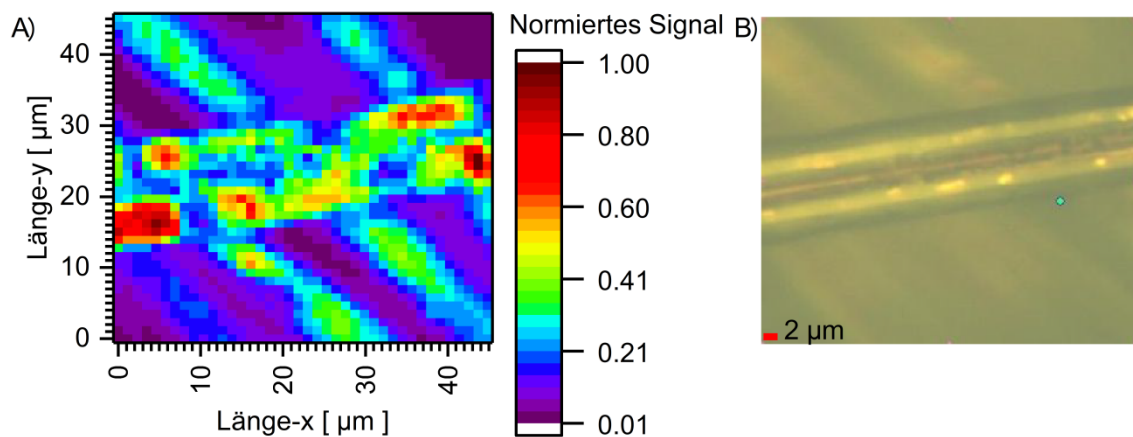


Abbildung 29 Mapping von einem Papier (Sprühmethode; AuNP-1; PP = 8964; Adenin; V = $10\text{ }\mu\text{L}$; c = 10^{-4} M) am Raman Mikroskop (LWL = 633 nm ; DZ = 1 s ; SPM = 1; LAS = 10 %; OB = $50\times$ LWD). Analyse mit LabVIEW Programm Ramapper_1_5 (Bereich 712 cm^{-1} bis 770 cm^{-1} ; Banden Maximum 736 cm^{-1} bis 741 cm^{-1} ; Untergrund-Subtraktion in dem Bereich; Integration in dem Bereich $\cong 12\text{ Pixel}$; Signal normiert auf 1).

Mit dem beschriebenen Testchip und dem RamanRxn1 wurden drei klassische SERS-Reporter 4-Aminothiophenol, Rhodamin 6G und Adenin gemessen (Abbildung 30). Alle drei Analyten zeigen SERS-Spektren mit einer akzeptablen Signal-Intensität.

Im nächsten Test wurden zwei anwendungsbezogene Analyten gemessen. Dabei handelt es sich um zwei Antibiotika Enoxacin und Enrofloxacin.[92, 146-149] Sie gehören beide zu den Fluoroquinolonon Antibiotika. Enrofloxacin findet in der Viehwirtschaft Einsatz und darf laut Gesundheitsorganisationen einen Gehalt von $0,1\text{ ppm}$ in Fleischprodukten nicht überschreiten. Enoxacin ist hingegen ein Breitbandantibiotikum für den humanmedizinischen Gebrauch.[147] Die beiden Analyten wurden in Lösung präpariert und auf die SERS-Substrate aufgetropft. Die bestimmten Signale in den gemessenen Spektren, entsprechen den

Literaturangaben [92, 146, 148, 149] für die beiden Analyten (Abbildung 31). Die Sensitivität der so getesteten Proben reicht nur bis zu einer Konzentration von 10^{-5} M, bei der gerade noch die intensivste Bande detektiert wird. Diese Konzentration entspricht aber bei weitem noch nicht dem Grenzwert für Enrofloxacin. Daher zeigt diese Analyse der Antibiotika nur einen prinzipiellen Ansatz für die Detektion dieser Analyten mit Papier-SERS-Substraten.

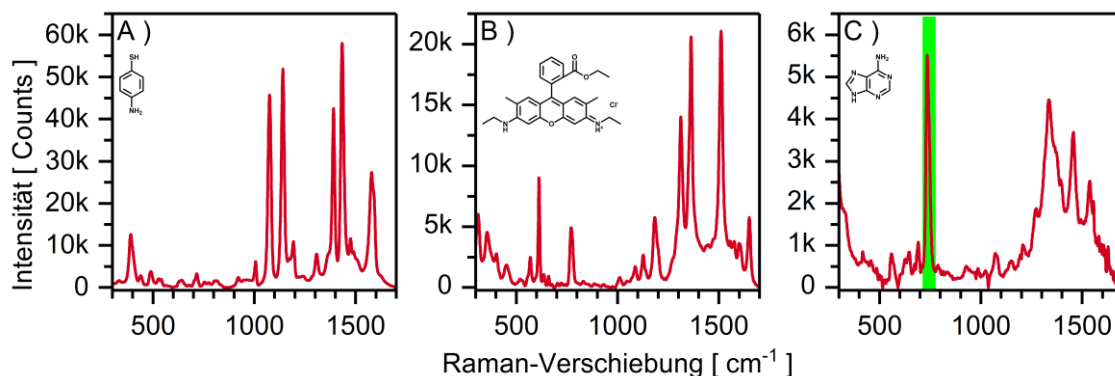


Abbildung 30 SERS-Spektren von A) 4-Aminothiophenol, B) Rhodamin 6G und C) Adenin, alle Analyten sind in einer Konzentration von 5×10^{-5} M aufgetragen. SERS-Chips präpariert mit der Sprühhmethode (Abbildung 12 B; AgNP-1; PP = 8964; bei Adenin $\approx 10^{10}$ NP mm $^{-2}$) und gemessen mit dem RamanRxn1 (DZ = 20 s; SPM = 3; LL = 300 mW);.[139]

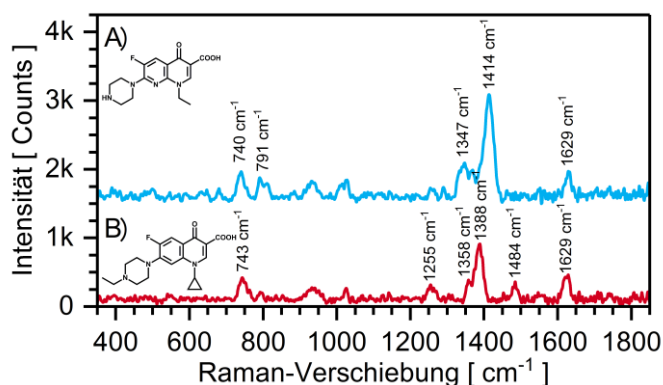


Abbildung 31 SERS-Spektren von A) Enoxacin und B) Enrofloxacin ($V = 5 \mu\text{L}$; $c = 10^{-4}$ M) auf Testchips (Sprühhmethode; AgNP-1; PP = 8964; $V_{\text{NP}} = 3,1$ mL; $Z = 5$; hellere Beschichtungsfarbe). Die Spektren (RamanRxn1; DZ = 20s; SPM = 3; LL = 300 mW) sind Untergrund-korrigiert (Abzug Referenzspektrum \rightarrow Untergrund gerade ziehen \rightarrow auf null setzen).[139]

Der letzte Test, der mit diesen SERS-Substraten durchgeführt wurde, ist die Bestimmung einer Konzentration-Signal-Korrelationsfunktion. Als Analyt diente hier erneut Adenin. Es wurde ein Konzentrationsbereich von ca. 10^{-4} M bis 10^{-8} M gemessen und bei den Messungen handelte es sich um Einzelpunktmessungen. Die aufgenommenen Spektren wurden im Bereich von 710 cm^{-1} bis 770 cm^{-1} analysiert. Die SERS-Banden für die einzelnen Konzentrationen sind in Abbildung 32 A gezeigt. Die Intensitäten der Ringatemschwingung bei 735 cm^{-1} wurde bestimmt und gegen die Analytkonzentration aufgetragen (Abbildung 32 B & C). Dabei ist die Konzentrationsachse einmal linear (Abbildung 32 B) und einmal logarithmisch (Abbildung 32 C) aufgetragen, so zeigt sich der Verlauf der Daten besser. Als Fit-Funktion wird hier eine Langmuir-Isotherme verwendet. Der Fit wird solange neu berechnet, bis die genutzten Werte einen kleineren Fehler zur Fitfunktion aufweisen als 10 %. Dieser Wert ist abgeleitet von der RSD aus den vorhergehenden Experimenten. Alle Werte, die einen höheren Fehler aufweisen, werden danach als Ausreißer definiert und aus dem Fit genommen (Tabelle 5). Die übrig gebliebenen Datenpaare bestimmen die Fitfunktion. Die genutzten Werte sind in den Diagrammen Abbildung 32 B bis D die roten Quadrate und die Ausreißer sind die grünen Quadrate. In Abbildung 32 D ist noch die linearisierte Form der Funktion mit den genutzten Fitwerten aufgetragen. Aus der linearen Form werden die Adsorptionskonstante K und die maximale Signalintensität $I_{\text{SERS,max}}$ bestimmt. Dabei ergibt sich für K ein Wert von 28103 M^{-1} und für $I_{\text{SERS,max}}$ ein Wert von 8827 Counts für diese Messreihe. Aus den berechneten Daten kann ein LOD und ein maximales Signal berechnet werden, welche die Grenzen des dynamischen Bereichs des Systems darstellen. Der dynamische Bereich ist von $8 \cdot 10^{-7}\text{ M}$ bis $2 \cdot 10^{-3}\text{ M}$, alle Daten stehen in Tabelle 6.

Tabelle 5 Datenpaare, die bei der Analyse der Langmuir-Isotherme verwendet wurden.[139]

c Adenin	Intensität	c^{-1}	Intensität $^{-1}$	Ausreißer
[M]	[Counts]	[M^{-1}]	[Counts^{-1}]	(grün)
$9,9 \cdot 10^{-5}$	6638	$1,0 \cdot 10^4$	$1,5 \cdot 10^{-4}$	
$7,4 \cdot 10^{-5}$	5912	$1,3 \cdot 10^4$	$1,7 \cdot 10^{-4}$	
$5,0 \cdot 10^{-5}$	5021	$2,0 \cdot 10^4$	$2,0 \cdot 10^{-4}$	
$2,5 \cdot 10^{-5}$	3670	$4,0 \cdot 10^4$	$2,7 \cdot 10^{-4}$	
$9,9 \cdot 10^{-6}$	2276	$1,0 \cdot 10^5$	$4,4 \cdot 10^{-4}$	
$7,4 \cdot 10^{-6}$	1750	$1,3 \cdot 10^5$	$5,7 \cdot 10^{-4}$	
$5,0 \cdot 10^{-6}$	1078	$2,0 \cdot 10^5$	$9,3 \cdot 10^{-4}$	
$2,5 \cdot 10^{-6}$	818	$4,0 \cdot 10^5$	$1,2 \cdot 10^{-3}$	

$9,9 \cdot 10^{-7}$	402	$1,0 \cdot 10^6$	$2,5 \cdot 10^{-3}$	
$7,4 \cdot 10^{-7}$	346	$1,3 \cdot 10^6$	$2,9 \cdot 10^{-3}$	
$4,9 \cdot 10^{-7}$	279	$2,0 \cdot 10^6$	$3,6 \cdot 10^{-3}$	
$2,5 \cdot 10^{-7}$	154	$4,1 \cdot 10^6$	$6,5 \cdot 10^{-3}$	
$9,9 \cdot 10^{-8}$	155	$1,0 \cdot 10^7$	$6,5 \cdot 10^{-3}$	
$9,9 \cdot 10^{-9}$	87	$1,0 \cdot 10^8$	$1,2 \cdot 10^{-2}$	

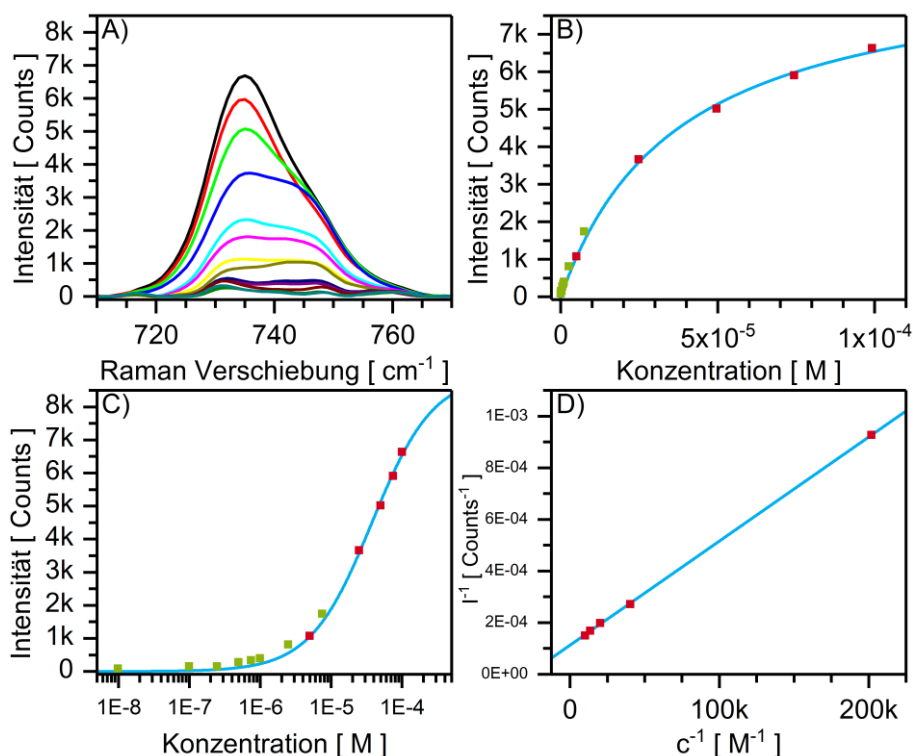


Abbildung 32 A) SERS-Bande von Adenin ($V = 5\mu\text{L}$; c von 10^{-4} M bis 10^{-8} M) auf Test-chips (Sprühmethode; Abbildung 12 B; AgNP-1; PP = 8964; $V_{\text{NP}} = 3,1$ mL & 3,4 mL ; Z = 5; hellere Beschichtungsfarbe). Die Spektren (RamanRxn1; DZ = 20s; SPM = 3; LL = 300 mW) sind Untergrund korrigiert (Origin 9G → Bereich der Bande 710 cm^{-1} bis 770 cm^{-1} → Benutzerdefinierte Untergrundkorrektur). Bestimmung der Intensität bei 735 cm^{-1} aufgetragen gegen die Konzentration von Adenin B) lineare Konzentrationsachse und C) logarithmische Konzentrationsachse. D) zeigt die linearisierte Auftragungsform der Langmuir-Isothermen in doppelt reziproker Form.[139]

Tabelle 6 Daten aus dem linearen Fit der Langmuir-Isothermen Abbildung 32 D und die daraus berechnete Adsorptionskonstante K, das maximale SERS Signal $I_{\text{SERS,max}}$, die maximale Konzentration und LOD (gerundet). Die maximale Konzentration ergibt sich aus dem reziproken Wert vom Achsenabschnitt und dem Standardfehler des Achsenabschnittes.

Achsenabschnitt [Counts ⁻¹]	$1,13 \cdot 10^{-4}$	K [M ⁻¹]	28103
Steigung [M Counts ⁻¹]	$4,03 \cdot 10^{-9}$	$I_{\text{SERS,max}}$ [Counts]	8827
Standardfehler Achsenabschnitt [Counts ⁻¹]	$2,25 \cdot 10^{-6}$	maximale Konzentration [M]	$2 \cdot 10^{-3}$
Standardabweichung Datenpunkte Leerprobe [Counts]	60,54	LOD [M]	$8 \cdot 10^{-7}$

Zusätzlich wurden noch zwei weitere Raman-Banden bei 1336 cm^{-1} und bei 1457 cm^{-1} ausgewertet. Sie zeigen den gleichen sigmoidalen Verlauf der Daten wie die Ringatemschwingung bei der halblogarithmischen Auftragung (Abbildung 33), haben aber andere K und $I_{\text{SERS,max}}$ Werte.

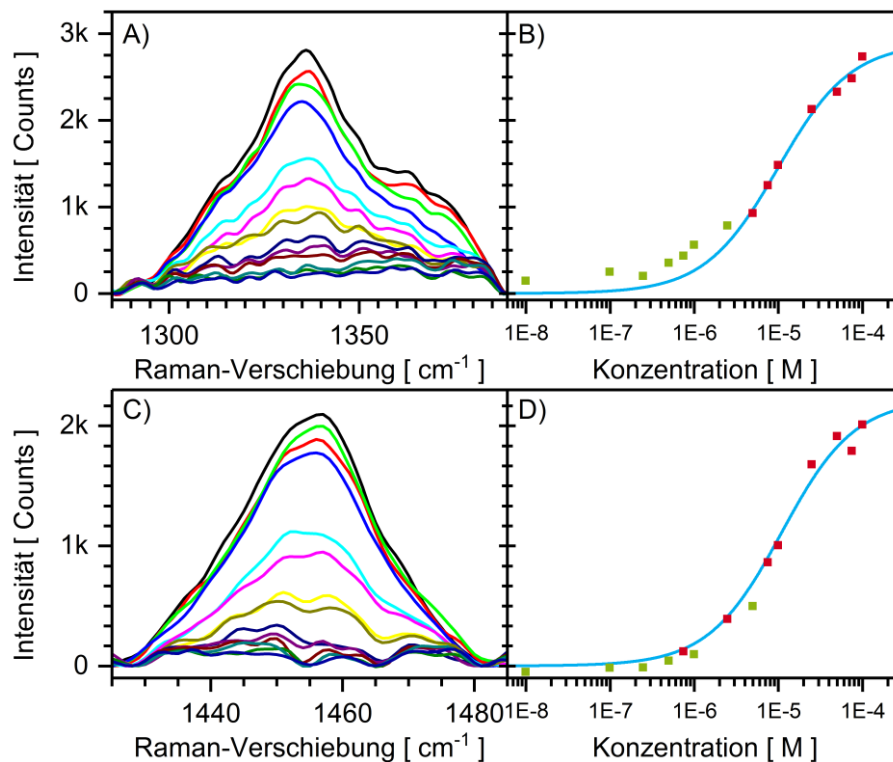


Abbildung 33 SERS-Banden und Konzentrationsfit ausgewertet bei A/B) 1336 cm^{-1} und bei C/D) 1457 cm^{-1} . Auswertung aus denselben Spektren wie bei Abbildung

32, daher auch gleiche Präparation, Mess-Parameter und Auswertungsmethode.[139]

Für die Präparation einer größeren Anzahl an Testchips ist die Sprühmethode mit diesem Präparationsaufbau nicht geeignet, da die Beschichtung der Papiere zu lange dauert. Daher wird in einem nächsten Schritt ein Druck der Nanopartikelsuspensionen ausprobiert.

4.1.4 SERS-Papierproben gedruckt ohne hydrophobe Barrieren

Das Drucken von Nanopartikelsuspensionen ist aus der Literatur bekannt. Dabei werden reine [78] oder mit Additiven versetzte Nanopartikelsuspensionen [70, 76] auf Papiere aufgedruckt. Hier wurden zur Präparation von SERS-Testchips zwei normale Bürodrucker mit reinen und mit Additiven versetzten Nanopartikelsuspensionen untersucht. Als Testdrucker wurden ein Brother MFC-J470DW und ein Epson EcoTank ET-2500 verwendet. Die Inbetriebnahme funktioniert bei dem Brother Drucker nur mit originalen Druckerpatronen. Daher muss der Drucker nach der Inbetriebnahme gut gespült werden, um die Farbe wieder aus dem Drucksystem zu entfernen. Dazu wurde der Drucker mit wieder-befüllbaren Patronen bestückt, die mit Wasser oder einem Wasser/Ethanol-Gemisch befüllt wurden. Anschließend wurde zum Spülen die Selbstreinigungsfunktion des Druckers genutzt und diese mehrere Male ausgeführt. Dann wurden die genutzten Patronen geleert und mit Nanopartikelsuspension befüllt. Um die Suspensionen so wenig wie möglich zu verändern, wurden am Anfang reine Suspensionen gedruckt. Als Papier wurde Whatman 1 (Zellulosepapier) verwendet, da es genauso wie normales Druckerpapier aus Zellulose besteht und schon vorher für SERS-Präparationen genutzt wurde.[80, 86, 119] Der zweite Grund ist, dass Glasfaserpapier nicht eingezogen wird oder vom Drucker zerrissen wird. In Abbildung 34 ist ein Beispielausschnitt aus einem bedruckten Zellulosepapier mit Silberpartikeln gezeigt.

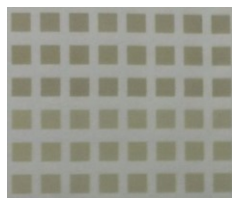


Abbildung 34 AgNP-2 ($\lambda_{\text{max}} = 426 \text{ nm}$; 10x kon.; in Wasser) gedruckt mit dem Brother Drucker (obere 3 Zeilen 30 Zyklen und untere 3 Zeilen 20 Zyklen; Cyan Patrone; 4x4 mm Quadrate) auf Whatman 1 Papier.

Messungen von solchen Testchips zeigen eine Verunreinigung mit Cyan-Farbe. Selbst nach nochmaligem mehrfachem Spülen mit einem Wasser/Ethanol-Gemisch ist die Verunreinigung noch zu sehen (Abbildung 35 A). Anhand der Extinktionsspektren der vier Farben (Abbildung 35 B) zeigt sich, dass Cyan eine sehr starke Absorption bei der genutzten Laserwellenlänge hat. Somit wird das Raman-Signal höchstwahrscheinlich resonant verstärkt, was in Verbindung mit den Nanopartikeln auch geringste Spuren an Cyan als Untergrundspektrum zeigt. Bei der Verwendung von anderen Patronen muss leider auch festgestellt werden, dass ein Cyan-Untergrund detektiert wird. Bei höheren Analyt-Konzentrationen ist der Untergrund meist unproblematisch, hingegen ist es bei niedrigen Analyt-Konzentrationen schwierig zwischen dem Analyt- und Untergrundsignal zu unterscheiden.

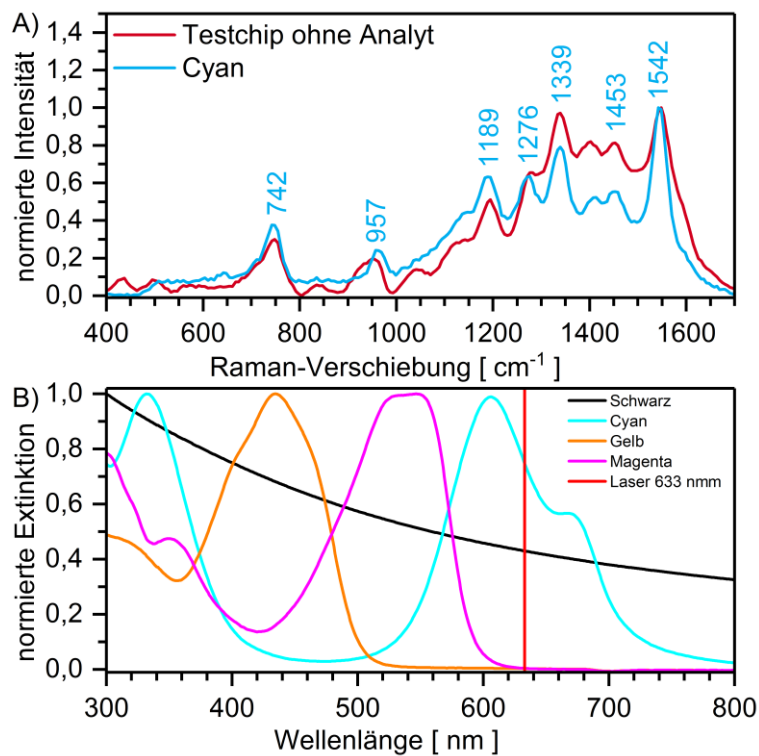


Abbildung 35 A) Testchip (rote Linie; AgNP-2; 10x kon.; in Wasser; Drucker Brother; Cyan Patrone; Z = 30; 4x4 mm Quadrate; PP = Whatman 1) und Druckerfarbe Cyan auf Objektträger (blaue Linie) gemessen am LMA (LWL = 633 nm; GT = 300 L mm^{-1} ; DZ = 10 s; $\pm 6 \text{ cm}^{-1}$). B) Extinktionsspektren der vier verwendeten Farben und Position Laserwellenlänge LMA.

Ein weiteres Problem, welches beim Drucken der Nanopartikelsuspensionen beobachtet wurde, ist, dass mit der Anzahl an Druckzyklen die gedruckte Menge an Nanopartikelsuspension abnimmt. Hier ist ähnlich wie bei der Airbrush davon auszugehen, dass sich die Druckdüsen

des Druckers mit der Zeit zusetzen. Um sie wieder frei zu bekommen wurden die Selbstreinigungsfunktionen des Druckers genutzt. Dabei wird schnell eine größere Menge an Drucklösung durch die Düsen gepumpt, was sie wieder freimachen soll. Solange die Düsen nicht ganz verstopft sind, kann diese Methode genutzt werden. Sind die Düsen einmal komplett geschlossen, funktioniert diese Methode nicht mehr. Das ständige Nachspülen, um die Düsen frei zu halten, bringt zwei Nachteile mit sich, zum einen, einen wesentlich höheren Verbrauch an Nanopartikelsuspension und zum anderen eine häufige Nutzung der Selbstreinigungsfunktionen. Da die Drucker aber nur eine definierte Anzahl an Reinigungszyklen zulassen, bis sie den Betrieb einstellen, wurde dies nach geraumer Zeit erreicht, so dass das Gerät eingeschickt oder komplett ausgetauscht werden musste. Das Problem mit dem Verstopfen der Düsen trat nicht nur bei dem Brother Drucker sondern auch bei dem Epson Drucker auf.

Daher wurden die Suspensionen mit Additiven versetzt, um ihre Druckeigenschaften zu verbessern und so weniger Probleme mit dem Zusetzen der Druckköpfe zu haben. Als Additive wurden Glyzerin und Ethanol zugesetzt.[77] Bei diesen Suspensionen dauert es teils länger bis sich die Düsen zusetzen, aber am Ende setzten sich auch hier die Düsen zu. Beim Epson Drucker wurde nicht das Problem mit der Verunreinigung durch Druckerfarbe beobachtet, aber das Problem mit dem Zusetzen der Düsen konnte auch hier nicht vermieden werden.

Zusammenfassend soll hier nur ein Konzentrationsversuch gezeigt werden, der mit den gedruckten Testchips vom Brother Drucker gemessen wurde. Als Analyt wurde wieder Adenin verwendet und in einem Konzentrationsbereich von 10^{-4} M bis 10^{-6} M gemessen. Die drei Spektren und die Intensitäten der Ringatemschwingung des Adenins sind in Abbildung 36 dargestellt.

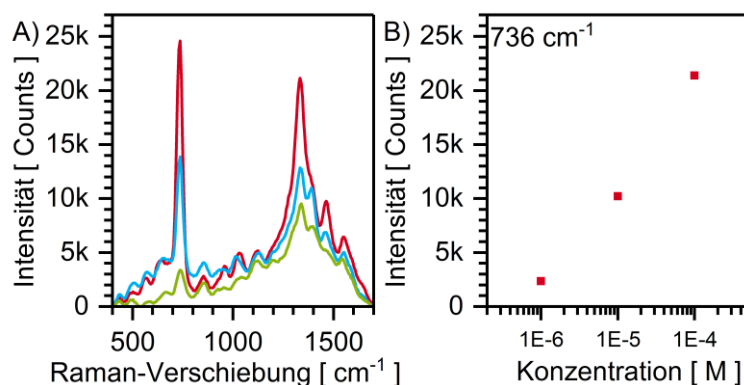


Abbildung 36 Auswertung von einer drei Punkt Messung (LMA; LWL = 633 nm; GT = 300 L mm^{-1} ; DZ = 10 s; $\pm 6 \text{ cm}^{-1}$; jeweils 2. Messung eines Testchips) von

Adenin ($V = 3 \mu\text{L}$; 10^{-4} M bis 10^{-6} M) auf gedruckten Testchips (AgNP-3; Endkonzentration = 10x kon.; Volumen Teile = Suspension : Glycerin : Ethanol = 5 : 4 : 1; Drucker Brother; gelbe Patrone; $Z = 50$; 4x4 mm Quadrate; PP = Whatman 1). A) Spektren der drei Messungen (OriginPro 2017G; Untergrundkorrektur im Bereich von 398 cm^{-1} bis 1702 cm^{-1} → Gerade Linie abgezogen). B) Intensitäten der SERS-Bande bei 736 cm^{-1} (OriginPro 2017G; Untergrundkorrektur im Bereich von 692 cm^{-1} bis 786 cm^{-1} → Gerade Linie abgezogen → bei 736 cm^{-1} Intensitätswert ausgelesen).

Nachdem beide Drucker nur noch unregelmäßige Druckmuster lieferten und die Selbstreinigungszyklen teils oder komplett aufgebraucht waren, wurde zu einer anderen Methode übergegangen, um große Anzahlen an SERS-Testchips herzustellen.

4.2 Messungen zur Reproduzierbarkeit auf Testpunkten

Eine Methode, um eine große Anzahl an SERS-Testchips (Testpunkten, Spots) herzustellen, ist die Präparation von hydrophoben Barrieren auf Papier und das anschließende Auftropfen von Nanopartikelsuspension.

4.2.1 Präparation, Messaufbau, Nanopartikel für Testpunkte und μPADs

Die Herstellung der Testpunkte und der μPADs folgt immer nach dem gleichen Prinzip. Es wird das gewünschte Layout der Testchips am Computer erstellt und anschließend mit einem kommerziellen Wachsdrucker (Xerox ColorQube 8580 AND) auf Papier gedruckt. Diese mit Wachs beschichteten Papiere werden für eine definierte Zeit und Temperatur erwärmt. Dabei geht das Wachs in einen fluiden Zustand über und diffundiert in das Papier, so dass sich hydrophobe Barrieren bilden. Zusätzlich wird die Rückseite mit einem Klebestreifen versiegelt. Im letzten Schritt erfolgt die Beschichtung mit Nanopartikelsuspension und die Auftragung des Analyten in Lösungsform. Der gesamte Ablauf ist in Abbildung 14 Kapitel 3.5 dargestellt.

Bei der Präparation können verschiedene Parameter variiert werden. Einer ist das Papier, hier wird sich als Standard auf Whatman Papiertyp 1 beschränkt. Die Nutzung von Glasfaserpapieren ist bei dem getesteten Bürowachsdrucker nicht möglich, da sie meistens nicht eingezo-gen werden oder vom Drucker zerrissen werden, ebenso wie es bei den Tintenstrahldruckern ist. Daher wird Zellulosepapier Whatman 1 verwendet. Weitere Parameter sind wie lange und bei welcher Temperatur das bedruckte Papier erwärmt wird, damit das Wachs das Papier

komplett durchdringen kann und geschlossene hydrophobe Barrieren bildet. Dazu werden Testpunkte und gerade Kanäle auf Papier gedruckt und bei verschiedenen Zeiten und Temperaturen im Trockenschrank erhitzt und anschließend unter dem Mikroskop die Größen der Punkte und Kanäle bestimmt. Die Schrumpfungswerte der Radien der Formen sind in Abbildung 37 als Mittelwerte aus den Kreis- und Kanalmessungen bei den jeweiligen Bedingungen bestimmt worden. Bei dem verwendeten Papier ist es prinzipiell möglich, jede der neun Kombinationen zu nehmen. Da aber nicht alle Temperaturen für alle Papiertypen geeignet sind, wird als Standard eine Temperatur von 110 °C mit einer Erwärmungszeit von 3 min gewählt.

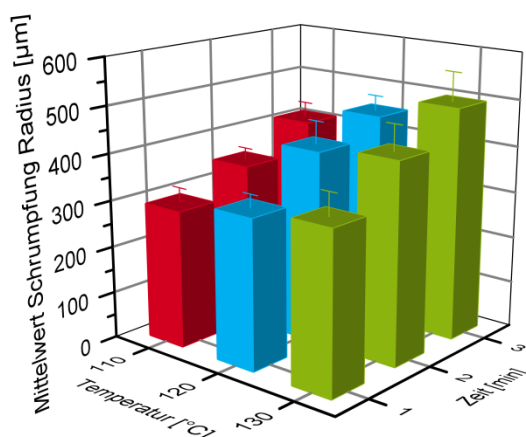


Abbildung 37 Schrumpfung der Radien im Verhältnis zu den gezeichneten Layouts. Die Messungen erfolgten an Proben, die mit Silbernanopartikeln (50x kon.) oder Rhodamin 6G ($c \approx 10^{-2}$ M) beschichtet sind (aufgetropft und Whatman 1). Die getesteten Layouts sind Testpunkte mit dem Durchmesser = 2,0/ 2,5/ 3,0/ 3,5/ 4,0 mm, und dem Volumen Lösung = 0,5 µL ($d = 2,0$ mm) und 1,0 µL bei den anderen Durchmessern. Bei den Kanälen (Breite = 1,0/ 1,5/ 1,6/ 2,0/ 2,5/ 3,0 mm) ist ein Volumen von 1 µL verwendet worden. Fehlerbalken sind die Standardabweichungen der Mittelwerte.

Für die Wahl des Durchmessers der Testpunkte wurden drei Durchmesser mit den Werten 2,5 mm, 3,0 mm und 3,5 mm (Durchmesser im Layout) getestet. Die Proben wurden mit Nanopartikeln beschichtet und ein Analyt wurde aufgetragen und das SERS-Signal bestimmt. Bei den Messungen dieser Proben ergaben 3,0 & 3,5 mm die intensivsten Signale und 2,5 & 3,0 mm die geringsten RSD. Daher wurde als Testpunktdurchmesser der Wert 3,0 mm gewählt, weil dieser Wert die beste Kombination aus Signalintensität und RSD ergibt.

Nach der Wahl der Präparationsbedingungen für die Papiere, würde im nächsten Präparations-schritt die Auftragung der Nanopartikelsuspensionen erfolgen. Darauf wird im nächsten Unterkapitel eingegangen. Hier soll vorher noch auf den genutzten Messaufbau, das LabVIEW-Analyseprogramm und die verwendeten Nanopartikelsuspensionen eingegangen werden.

Für die nachfolgenden Messungen wurde als Standard der Labormessaufbau aus Abbildung 17 Abschnitt 3.7 genutzt. Dieser Aufbau verfügt wie das RamanRxn1 über einen großen Laserpunkt von ca. 1,3 mm im Durchmesser auf der Probe. Die Messungen wurden im Standard mit dem 1800 L mm^{-1} Gitter, einer Spaltbreite von $150 \mu\text{m}$ und einer Detektionszeit von 60 s durchgeführt. Die Detektionszeit wurde gewählt, um ausreichend Signalintensität für die Messungen der Konzentrationsreihen zu haben.

Für die Auswertung der Daten wurde das LabVIEW-Analyseprogramm verwendet. Es bietet verschiedene Funktionen, die die Auswertung beschleunigen und vereinheitlichen. So wurde grundsätzlich ein automatisiert berechneter linearer Untergrund im ausgewählten Bereich abgezogen und erst dann Intensitäten und Flächen von Banden bestimmt. So können die gleichen Auswertungen für verschiedene Banden hintereinander schnell und einfach ausgeführt werden. Die umfassendste Funktion, über die das Programm verfügt, ist die Analyse eines Langmuir-Fits einer SERS-Bande in einem gegebenen Datensatz und das vollautomatisch nach der Eingabe aller Spektren, des maximalen Fehlers (vereinfachter Programmablaufplan siehe Abbildung 19) und der Auswahl der zu analysierenden SERS-Bande. Weitere Funktionen sind der Abzug eines Referenzspektrums oder die Bestimmung einer Konzentration einer unbekannten Analyt-Probe nach vorheriger Kalibrierung.

Die in den nachfolgenden Kapiteln genutzten Nanopartikelsuspensionen sind AgNP-3, AgNP-4, AuNP-2 und Au@AgNP. Hier sollen, wie im Abschnitt 4.1.1, die Kenngrößen der Suspensionen aufgeführt werden. Von jedem Nanopartikeltyp wurden mehrere Ansätze hergestellt. Bei AgNP-3 sind alle Ansätze nach der gleichen Konzentration und im gleichen Größenmaßstab hergestellt (Ansatz VIII anderer Maßstab), aber dennoch zeigen sich deutlich erkennbare Unterschiede in den Extinktionsspektren (Abbildung 38 A) und in den TEM-Auswertungen (Tabelle 7). Damit zeigt sich bei den hier genutzten Synthesen der reinen Silbernanopartikel die Schwierigkeit einer konstanten Reproduktion der Nanopartikelsuspension. Bei den drei anderen Nanopartikeltypen AgNP-4, AuNP-2 und Au@AgNP wurden Ansätze mit verschiedenen Volumina von Synthesekomponenten oder verschiedenen Seednanopartikeln hergestellt, welche in den Extinktionsspektren in Abbildung 38 B bis D dargestellt sind.

Für jeden der vier Nanopartikeltypen ist jeweils ein Nanopartikel-Größenhistogramm als Beispiel aufgeführt. Die Suspensionen, die Silber in der Synthese enthalten, zeigen breitere Verteilungen als reine Goldnanopartikel (Abbildung 39 und Tabelle 7). Zudem wurden bei den AgNP-3 auch sehr große Stäbchen von Nanopartikeln beobachtet. Die berechneten Konzentrationen der Suspensionen für AgNP-3, AuNP-2 und Au@AgNP ergeben sich nach den Gl. 45 und Gl. 46 (Kapitel 4.1.1), wobei bei Au@AgNP das Differenzvolumen von Au@AgNP und AuNP-2 als Volumen für die Berechnung der Silbermenge pro Nanopartikel genutzt wurde. Die Konzentrationen für AgNP-4 sind von den Konzentrationen der Ausgangssuspensionen übernommen worden.

Tabelle 7 Übersicht über die verschiedenen Ansätze der Suspensionen mit Bezeichnung, Maximum der Extinktion im betrachteten Wellenlängenbereich (* = Maximum im Bereich 325 nm^{-1} bis 800 nm^{-1}), mittlerer Kreisdurchmesser der NP aus den TEM-Bildern (arithmetischer Mittelwert über alle Nanopartikel, die einen gleich oder größeren Kreiswert als 0,7 haben), Breite der Nanopartikelverteilung, in der 90 % aller Nanopartikel liegen, Konzentration berechnet aus den mittleren Durchmessern der TEM-Bilder (abgerundet auf die nächste 5. Stelle) und Kommentare zu den einzelnen Suspensionen.

Suspension	λ_{max} [nm]	Durchmesser NP TEM [nm]	Breite Nanopartikel -verteilung [nm]	Konzentration [NP L ⁻¹]	Kommentare
AgNP-3-I	409	---	---	---	---
AgNP-3-II	406	---	---	---	---
AgNP-3-III	411	91	41-130	$1 \cdot 10^{13}$	---
AgNP-3-IV	409	43	21-60	$1 \cdot 10^{14}$	---
AgNP-3-V	425	77	41-110	$1 \cdot 10^{13}$	---
AgNP-3-VI	411	58	31-90	$5 \cdot 10^{13}$	---
AgNP-3-VII	413	---	---	---	---
AgNP-3-VIII	410	49	21-70	$1 \cdot 10^{13}$	Ansatz halbe Größe und 6,5 mL Citrat
AgNP-4-I	403	---	---	$5 \cdot 10^{13}$	5 mL PEI / AgNP-3-VI
AgNP-4-II	402	62	21-90	$5 \cdot 10^{13}$	600 μL PEI / AgNP-3-VI
AgNP-4-III	400	---	---	$5 \cdot 10^{13}$	600 μL PEI / AgNP-3- VI
AgNP-4-IV	401	---	---	$5 \cdot 10^{13}$	300 μL PEI / AgNP-3- VI
AgNP-4-V	402	---	---	$5 \cdot 10^{13}$	300 μL PEI / AgNP-3- VI
AgNP-4-VI	402	---	---	$5 \cdot 10^{13}$	300 μL PEI / AgNP-3- VI
AgNP-4-VII	405	---	---	$1 \cdot 10^{13}$	300 μL PEI / AgNP-3- VIII
AuNP-2-I	530	35	21-40	$1 \cdot 10^{13}$	500 μL Citrat
AuNP-2-II	535	35	21-50	$1 \cdot 10^{13}$	400 μL Citrat
AuNP-2-III	551	---	---	---	350 μL Citrat
Au@AgNP-I	489	101	81-120	$5 \cdot 10^{12}$	AuNP-2-I
Au@AgNP-II	497*	---	---	---	AuNP-2-III
Au@AgNP-III	506*	115	81-160	$1 \cdot 10^{12}$	AuNP-2-II
Au@AgNP-IV	479	96	71-120	$5 \cdot 10^{12}$	AuNP-2-I

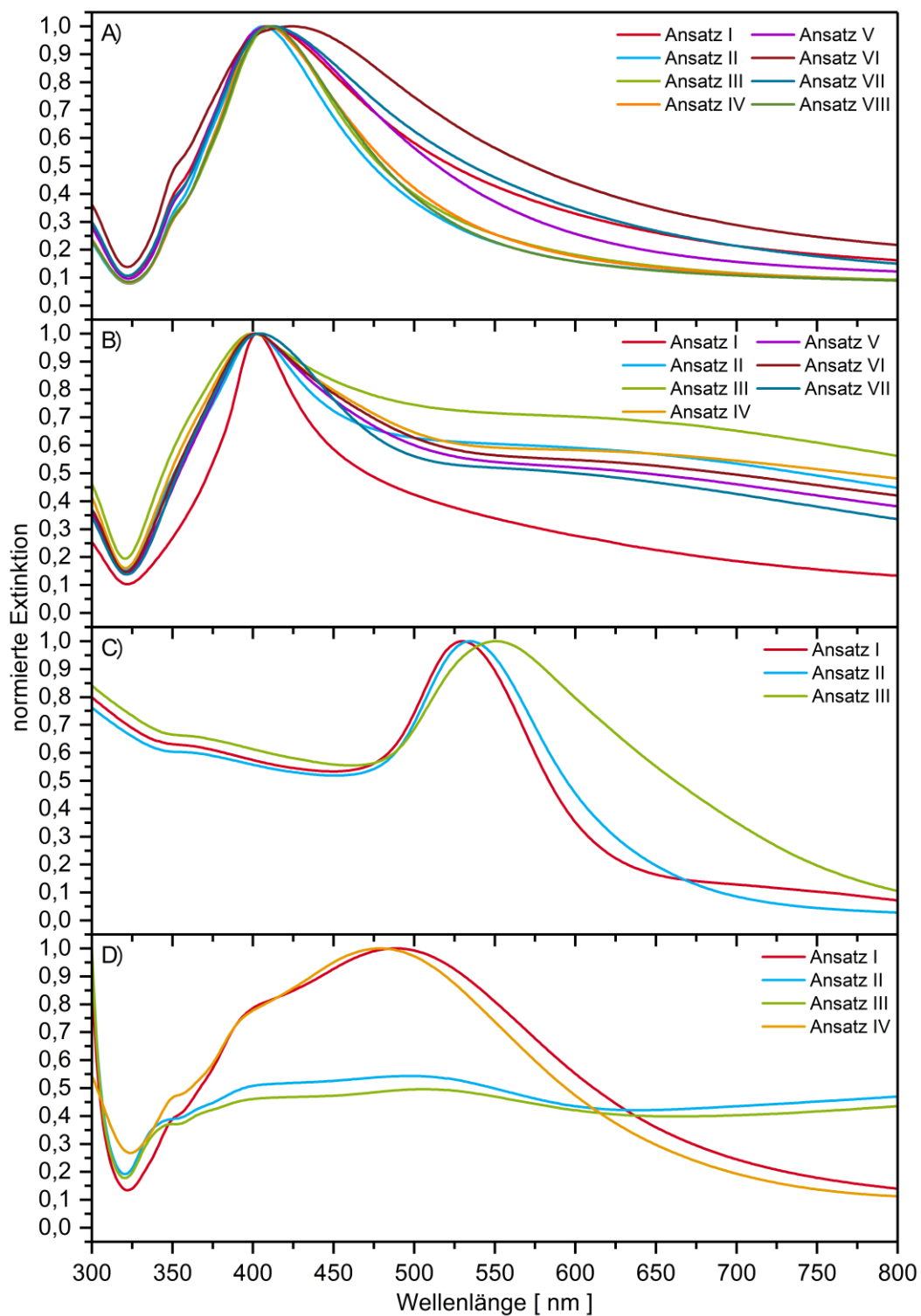


Abbildung 38 Normierte Extinktionsspektren der Nanopartikelsuspensionen A) AgNP-3, B) AgNP-4, C) AuNP-2 und D) Au@AgNP. Normierung auf das Maximum im betrachteten Wellenlängenbereich. Die Angaben zu den Maxima sind in Tabelle 7 aufgeführt.

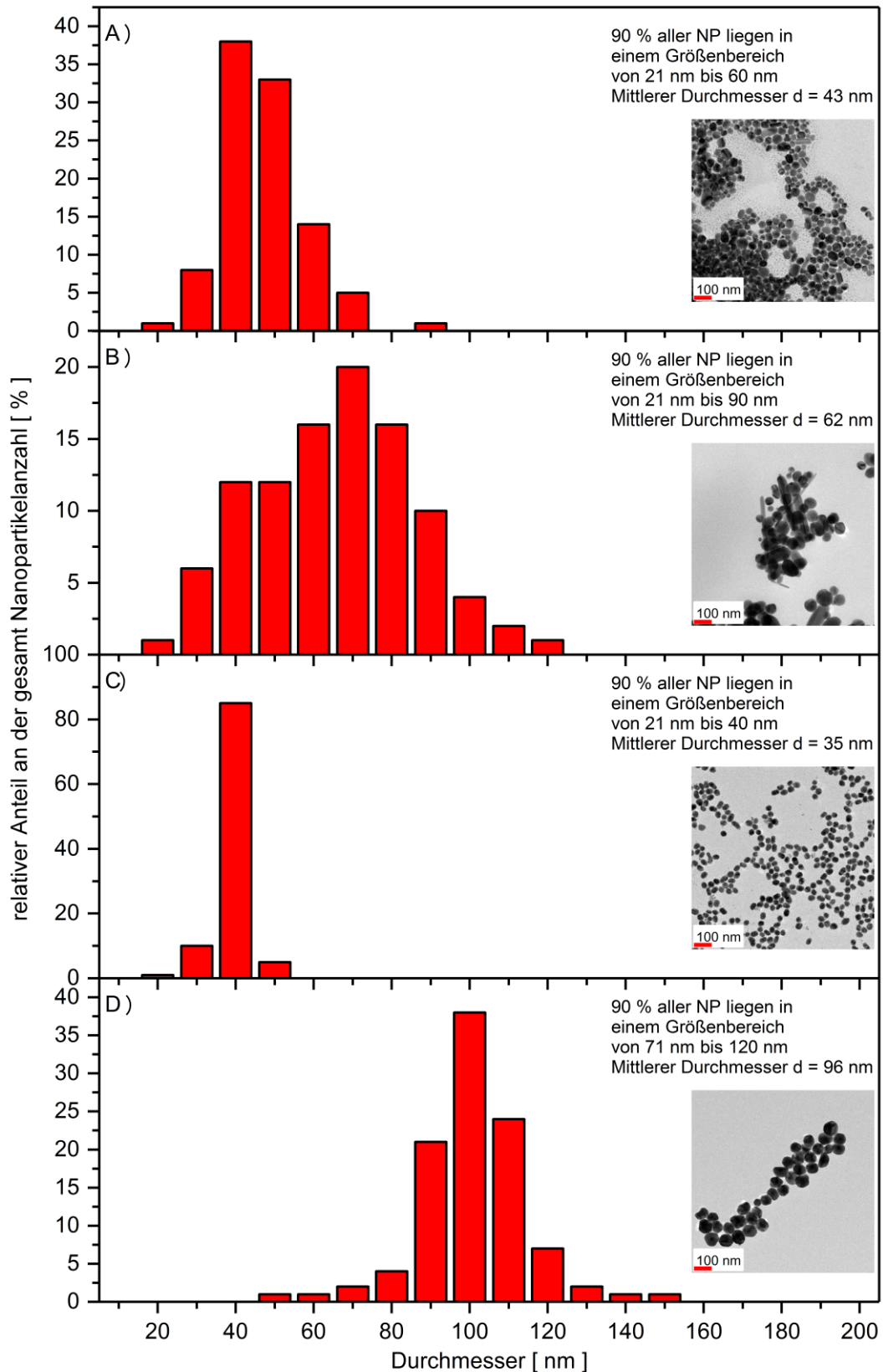


Abbildung 39 Histogramme der Nanopartikelsuspensionen AgNP-3-IV (A), AgNP-4-II (B), AuNP-2-I (C) und Au@AgNP-IV (D) mit jeweils einem Beispiel-TEM-Bild der getrockneten Suspension und der Angabe des Größenbereiches in

dem sich 90 % aller Nanopartikelgrößen befinden und dem mittleren Durchmesser (arithmetischer Mittelwert über alle Nanopartikel, die einen gleich oder größeren Kreiswert als 0,7 haben) der Nanopartikel.

4.2.2 Einflussfaktoren auf die SERS-Signalintensität

In diesem Abschnitt wird auf einige Einflussfaktoren der SERS-Signalintensität eingegangen wie z.B. die Beschichtung der Proben mit Nanopartikeln und die Auftragung des Analyten.

Ein Faktor ist z.B. die Trockenzeit der SERS-Proben vor der Messung. Dabei sind zwei Zeiten zu unterscheiden, die Zeit der Trocknung der Nanopartikelsuspension und die Trockenzeit des Analyten. In Tabelle 8 sind Messungen von Testpunkt-Proben mit $\text{Ru}(\text{bipy})_3$ als Analyt mit unterschiedlichen Kombinationen der beiden Trockenzeiten aufgeführt. Die Werte für die Signalintensitäten in der Tabelle sind der besseren Vergleichbarkeit auf das Maximum aller gemessenen Proben normiert. Aus der Tabelle 8 ist ersichtlich, dass je kürzer beide Trockenzeiten sind, desto höher die Signalintensitäten sind. Die höchsten Signalintensitäten wurden bei Proben beobachtet, die direkt nach dem Auftragen der Nanopartikelsuspension auf dem Papier mit der Analyt-Lösung beschichtet wurden. Dabei zeigt sich, dass die Signalintensität nur langsam mit der Analyt-Trockenzeit bei konstanter Nanopartikelsuspension-Trockenzeit abnimmt. Beim direkten Auftropfen des Analyten nach der Nanopartikelsuspension und 30 min Analyt-Trockenzeit hat sich die Signalintensität um nur ca. 20 % verringert. Hingegen ist bei einer konstanten Analyt-Trockenzeit und einer Veränderung der Nanopartikelsuspensions-Trockenzeit ein schneller Abfall der Signalintensität zu beobachten. So ist nach 5 min Suspension-Trockenzeit und 5 min Analyt-Trockenzeit die Signalintensität schon auf 50 % gesunken. Je länger die beiden Zeiten werden, desto kleiner werden die Intensitäten und die Intensitätsveränderungen.

Tabelle 8 Vergleich von SERS-Signalintensitäten bei Veränderung von Nanopartikelsuspensions- und Analyt-Trockenzeiten. Signalintensitäten normiert auf die Messung bei 0 min Trockenzeit Silbernanopartikel ($V = 0,5 \mu\text{L}$; AgNP-3; 50x kon.) & 5 min Analyt Trockenzeit ($V = 0,5 \mu\text{L}$; $c = 10^{-4} \text{ M}$) in Prozent. Die Messungen wurden mit $\text{Ru}(\text{bipy})_3$ als Analyt am LMA ($GT = 1800 \text{ L mm}^{-1}$; $DZ = 60 \text{ s}$) aufgenommen. Ausgewertet wurde die SERS-Bande bei 1488 cm^{-1} (1469 cm^{-1} bis 1504 cm^{-1} ; Untergrundkorrektur \rightarrow Flä-

che bestimmt mit LabVIEW-Analyseprogramm). (Trockenzeit Analyt \rightarrow ¹ = 8 min / ² = 35 min / ³ = 65 min)

		Silbernanopartikel - Trockenzeit [min]					
		0	5	10	20	30	60
Analyt – Trockenzeit [min]	5	100 %	50 %	---	---	33 %	27 ¹ %
	10	95 %	---	35 %	---	---	---
	20	---	---	---	33 %	---	---
	30	81 %	38 ² %	---	---	41 % (Exsikkator mit N ₂) 39 % (RH \approx 80 %) 28 % (Raum RH \approx 40 %)	---
	60	---	---	---	---	---	31 ³ %

Um einen Einblick in die Signalentwicklung der ersten 10 min nach dem direkten Auftropfen der Nanopartikelsuspension und des Analyten zu bekommen, ist eine Probe in Abständen von 30 s nach dem Auftropfen gemessen worden (Abbildung 40). In den Spektren ist eine breite Bande im Bereich von 1330 cm⁻¹ bis 1470 cm⁻¹ mit einem Maximum um 1397 cm⁻¹ zu beobachten. Diese Bande wird als indirekter Indikator für die Feuchtigkeit der Probe verwendet und im Weiteren als Feuchtigkeitsbande bezeichnet. Ein Vergleich mit der Literatur ergibt, dass diese Bande ein SERS-Signal von Citrat ist.[150] Werden die normierten Flächen der Feuchtigkeitsbande und der SERS-Bande bei 1488 cm⁻¹ von Ru(bipy)₃ in einem Diagramm dargestellt (Abbildung 40), zeigt sich, dass mit abnehmendem Feuchtigkeits-Signal zuerst das SERS-Signal des Analyten ansteigt und dann wieder abfällt. Der starke Anstieg des Signals des Analyten von 120 s bis 180 s ist auf die Volumenverringerung des Lösungsmittels (Wasser) und die damit verbundene Aufkonzentration des Analyten zurückzuführen. Der Abfall der Feuchtigkeitsbande im Bereich von 0 s bis 210 s ist auf die Adsorption von Ru(bipy)₃ und das Verdrängen von Citrat zurückzuführen. Ab 180 s fällt auch das Analyt-Signal nur noch, hierbei ist in den nächsten 60 s ein Signalabfall um ca. 30 % zu beobachten. Dieser Signalabfall und der weitere Signalabfall kommen höchstwahrscheinlich von der Interaktion der nicht mehr durch einen kompletten Wasserfilm geschützten Nanopartikel und/oder Agglomerate mit der Umgebungsluft, was zu einer Deaktivierung der Nanopartikel führt, die auf eine Oxidation des Silbers zurückzuführen ist.[151] Wird die Intensität bei 5 min auf 100 % gesetzt und mit dem Signal der Probe nach 10 min verglichen (grüne Punkte Abbildung 40), so zeigt sich eine Signalintensität von 91 % bei 10 min, was dem Wert aus Tabelle 8 bei 10 min entspricht. Die Deaktivierung der Nanopartikel zeigt sich auch durch einen Vergleich von Proben mit einer 30 min x 30 min Trockenzeit, die unter verschiedenen Umgebungsbedingungen herge-

stellt wurden (Tabelle 8). Die drei verglichenen Umgebungsbedingungen sind einmal in einem Exsikkator, der mit Stickstoff gespült ist, einmal in einem Becherglas mit Deckel, welches Wasser enthält und eine Luftfeuchtigkeit (englisch: **relative humidity** = RH) von ca. 80 % hat und unter normalen Raumbedingungen. Hier zeigt sich, dass unter normalen Raumbedingungen etwa 25 % weniger Signal beobachtet wird als bei den Proben im Exsikkator oder unter 80 % RH. In beiden Fällen ist von einer geringeren Interaktion von Raumluft (Sauerstoff oder Ozon) mit den Nanopartikeln auszugehen, da bei diesen Proben entweder die Sauerstoffkonzentration in der Luft geringer ist oder die Nanopartikel effektiver durch einen Wasserfilm abgeschirmt werden. Als Konsequenz und Kompromiss zwischen Präparationsaufwand und Signalintensität wurden die Proben der Messung der Reproduzierbarkeit so präpariert, dass direkt nach dem Auftropfen der Nanopartikelsuspension die Analyt-Lösung aufgetropft wurde und die Proben anschließend 15 min getrocknet wurden, um so nicht der starken Signalveränderung direkt nach dem Auftragen zu unterliegen (Abbildung 40 3 min bis 5 min) und praktikable Zeitabstände für die Messungen zu haben.

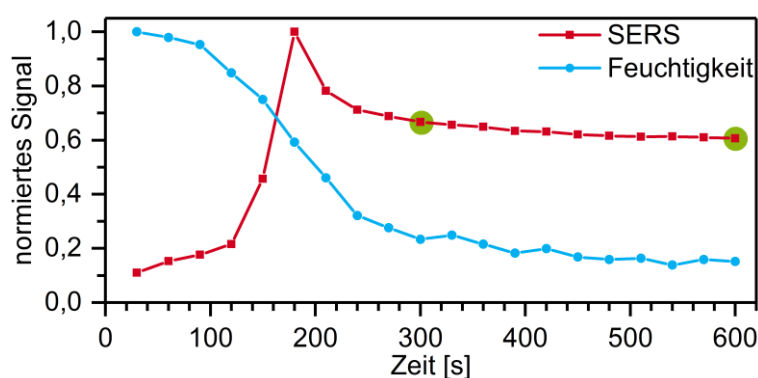


Abbildung 40 Messung einer Testpunkt-Probe über die ersten 10 min Trockenzeit. Signalintensitäten normiert auf die jeweilig maximale Fläche eines Messpunktes einer Messreihe. Rote Linie SERS-Signal von $\text{Ru}(\text{bipy})_3$ ($V = 0,5 \mu\text{L}$; $c = 10^{-4} \text{ M}$) direkt auf die Nanopartikelsuspension ($V = 0,5 \mu\text{L}$; AgNP-3; 50x kon.) aufgetropft und gemessen ($\text{GT} = 1800 \text{ L mm}^{-1}$; $\text{DZ} = 30 \text{ s}$; 20 Messungen hintereinander). Ausgewertet wurde die SERS-Bande bei 1488 cm^{-1} (1470 cm^{-1} bis 1505 cm^{-1} ; Untergrundkorrektur \rightarrow Fläche bestimmt mit LabVIEW-Analyseprogramm & Origin). Blaue Linie Feuchtigkeitssignal in einem Bereich von 1333 cm^{-1} bis 1470 cm^{-1} ausgewertet (Untergrundkorrektur \rightarrow Fläche bestimmt mit LabVIEW-Analyseprogramm & Origin).

Ein anderer Einflussfaktor sind die eingesetzten Nanopartikel und deren Konzentration auf dem Papier. In Abbildung 41 A sind drei verschiedene Nanopartikeltypen mit ihren Signalintensitäten aufgeführt. Alle sind auf das 50-fache ihrer Synthesekonzentration aufkonzentriert worden. Dabei zeigt sich, dass die AgNP-3-IV das stärkste Signal liefern. Die Goldnanopartikel zeigen eine Signalintensität unter 15 % und die Kern-Schalen-Nanopartikel (Au@AgNP) zeigen ein Signal zwischen 40 % und 50 %. Werden die Aufkonzentrationen der Suspensionen verändert, so zeigen sich auch veränderte Signalintensitäten bei den Analyt-Messungen. Dabei ist bei Aufkonzentration aller Suspensionen ein Signalanstieg zu beobachten, jedoch immer nur bis zu einer gewissen Konzentration, wonach die Signalintensität wieder abfällt (Abbildung 41 B & C). Ab welcher Konzentration die Signalintensität abfällt, ist abhängig von den Nanopartikeln. Bei allen gemessenen Suspensionen (AuNP-2 oder Au@AgNP) ist die Signalintensität schwächer als bei AgNP-3-IV 50-fach konzentriert (Abbildung 41 B). Wenn aber dieselben Konzentrationen der Suspensionen eingesetzt werden, ergibt sich ein etwas anderes Bild. So zeigt AgNP-3-IV bei einer Konzentration von $2,5 \cdot 10^{14} \text{ NP L}^{-1}$ (AgNP-3-IV 2,5-fach kon.) ein wesentlich geringeres Signal als die Kern-Schale-NP (Abbildung 41 D). Bei $5 \cdot 10^{14} \text{ NP L}^{-1}$ (AgNP-3-IV 5-fach kon.) wurde eine ähnliche Intensität für AgNP-3-IV und Au@AgNP-III beobachtet, die wesentlich höher sind als die der AuNP-2-III Suspension bei gleicher Konzentration. Wurden die Konzentrationen weiter erhöht, so zeigte sich, dass das AgNP-3-IV Signal stärker wird als das Au@AgNP-IV Signal. Aus diesen Darstellungen ergeben sich folgende Schlussfolgerungen: Kugelförmige Goldnanopartikel der hier genutzten Größen zeigen immer wesentlich geringere Signale als die Suspensionen AgNP-3 und Au@AgNP. Dies wird auf den Unterschied zwischen Gold- und Silbernanopartikeln zurückgeführt.[143] Des Weiteren zeigen die hier verwendeten Kern-Schale-NP an ihren maximalen Intensitäten ein geringeres Signal als die AgNP-3-IV bei ihrer maximalen Intensität. Damit geben größere Nanopartikel nicht automatisch ein intensiveres SERS-Signal auf Papier, wie es in Suspension aus der Literatur bekannt ist.[62, 152] Der Grund wird vermutlich in den unterschiedlichen Aggregaten der Suspensionen auf dem Papier begründet sein, die bei AgNP-3 bei höheren Konzentrationen zu der größten SERS-Verstärkung führen. Aufgrund der Ergebnisse dieser Untersuchungen wurden in den folgenden Experimenten AgNP-3 Suspensionen in der Aufkonzentration 50-fach verwendet.

Zusätzlich ist bei den Messungen mit unterschiedlichen Nanopartikelsuspensionen aufgefallen, dass die unterschiedlichen Nanopartikeltypen unterschiedliche Raman-Verschiebungen für die Ringatemschwingung von Adenin zeigen. Die reinen Goldnanopartikel zeigen ein Ma-

ximum um die 737 cm^{-1} , die reinen Silbernanopartikel zwischen 733 cm^{-1} und 734 cm^{-1} und Gold-Silber- Kern-Schale-NP zwischen 732 cm^{-1} und 733 cm^{-1} . Die unterschiedlichen Bandenpositionen sind bei der Auswertung der Messungen zu beachten.

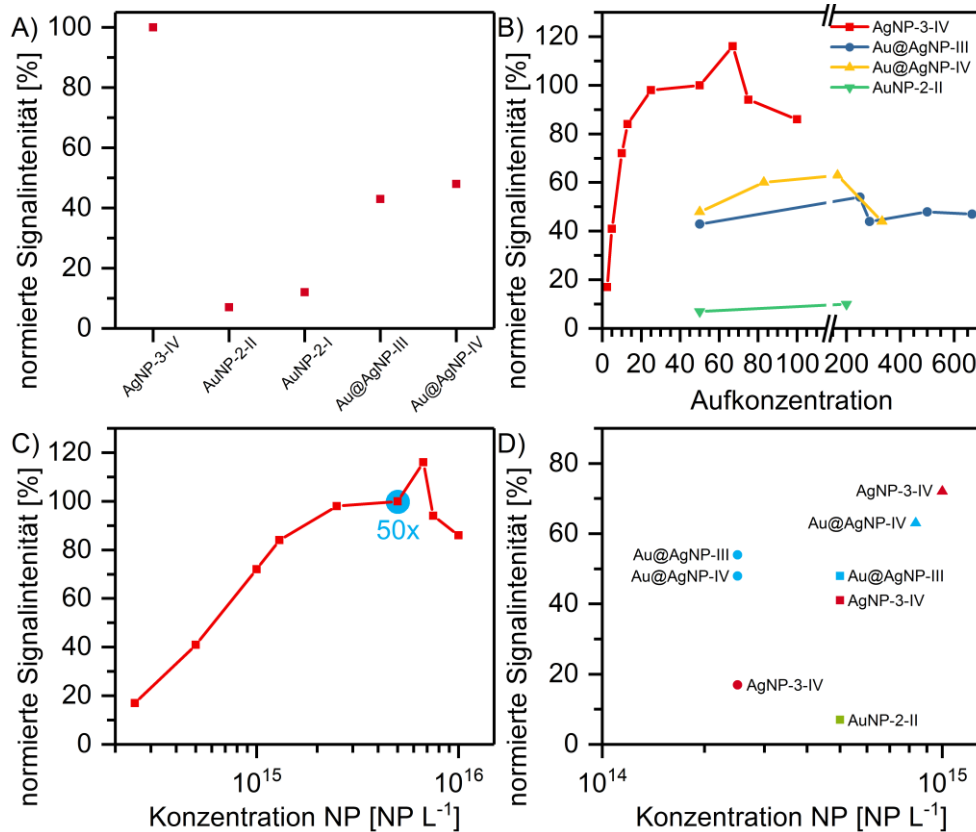


Abbildung 41 Messung verschiedener Nanopartikeltypen ($V = 0,5\text{ }\mu\text{L}$) auf Testpunkten mit Adenin als Analyt ($V = 0,5\text{ }\mu\text{L}$; $c = 10^{-4}\text{ M}$). Präparation nach der Standardmethode und Messung am LMA ($GT = 1800\text{ L mm}^{-1}$; $DZ = 60\text{ s}$). In allen vier Diagrammen sind die Intensitäten der Signale auf die Messung von AgNP-3-VI 50-fach konzentriert normiert und es sind jeweils die Signalintensitäten gegen Proben verschiedener Nanopartikeltypen oder Aufkonzentrationen aufgetragen. A) verschiedene Batches der drei Nanopartikeltypen mit 50-facher Aufkonzentration, B) die drei Nanopartikeltypen in verschiedenen Aufkonzentrationen, C) AgNP-3-VI mit logarithmischer Konzentrationsachse NP L^{-1} und D) Vergleich von Nanopartikeltypen bei gleicher oder ähnlicher Nanopartikelkonzentration der genutzten Suspensionen. Ausgewertet wurde die SERS-Bande um 735 cm^{-1} (700 cm^{-1} bis 780 cm^{-1} ; Untergrundkorrektur \rightarrow Fläche bestimmt mit LabVIEW-Analyseprogramm & Origin).

Im Kapitel Auftragung und Detektion wurde schon gezeigt, dass mit der Variation der Analyt-Konzentration bei konstantem Analyt-Volumen eine Veränderung des SERS-Signals zu beobachten ist. Hier wurden nun die Auswirkungen der Volumenveränderung des Analyten bei konstanter Konzentration auf die Signalintensität betrachtet. Dazu wurden im Konzentrationsbereich von 10^{-5} M bis 10^{-4} M und im Volumenbereich von 0,5 μ L bis 5,0 μ L Proben von Adenin gemessen. Abbildung 42 zeigt diese Messungen, dabei sind die grünen Messpunkte mit unterschiedlicher Konzentration und die roten mit unterschiedlichem Volumen gemessen worden, aber die Proben eines Paares enthalten immer dieselbe Stoffmenge des Analyten. Bei den absoluten Signalen wurde kein Unterschied beobachtet, je nachdem, ob die Konzentration oder das Probenvolumen verändert wurde. Einzig die gesamte Stoffmenge, die aufgebracht wurde, ist von Bedeutung für das SERS-Signal. Hier wurde eine Stoffmenge von $5 \cdot 10^{-12}$ mol bis $5 \cdot 10^{-11}$ mol betrachtet. Dabei muss beachtet werden, dass die hier angegebenen Signalintensitäten sich auf Testpunkte mit dem Durchmesser von 3 mm und AgNP-3 50x konzentriert beziehen. Bei ansonsten konstanten Bedingungen ist es somit die aufgetragene Stoffmenge pro Fläche Papier, die das Signal bestimmt. Das gleiche gilt aber nicht nur für die Analyt-Stoffmenge, sondern auch für die Stoffmenge an Nanopartikeln, wie aus Abbildung 41 C ersichtlich ist. Als Standard wurde sich in beiden Fällen aufgrund der Präparationszeit auf je 0,5 μ L für die NP-Suspension und die Probenlösung beschränkt, da bei größeren Volumina längere Trockenzeiten benötigt werden.

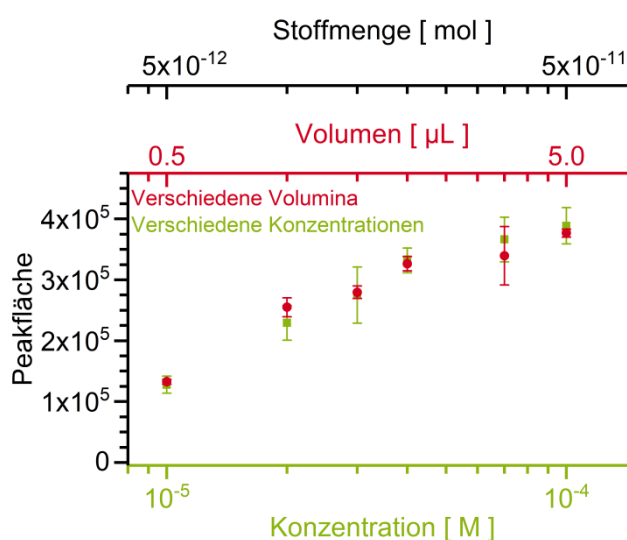


Abbildung 42 Messungen (LMA; GT = 1800 L mm⁻¹; DZ = 60 s) von AD mit verschiedenen Konzentrationen ($c = 1 \cdot 10^{-5}$ / $2 \cdot 10^{-5}$ / $3 \cdot 10^{-5}$ / $4 \cdot 10^{-5}$ / $5 \cdot 10^{-5}$ / $1 \cdot 10^{-4}$ M; $V = 0,5 \mu$ L; grüne Quadrate; Fehler sind die maximalen Abweichungen von den Mittelwerten) und verschiedenen Volumina ($c = 1 \cdot 10^{-5}$ M; $V = 0,5$ / $1,0$ / $1,5$ /

2,0/ 3,5/ 5,0 μL ; rote Kreise; Fehler sind die maximalen Abweichungen von den Mittelwerten). Präpariert nach der Standardmethode für verschiedene Konzentrationen und bei verschiedenen Volumina Änderung des Analyt-Volumens und der Analyt-Trockenzeit ($t = 15/ 20/ 25/ 30/ 45/ 60 \text{ min}$). Die eingesetzten Stoffmengen sind $n = 5 \cdot 10^{-12}/ 1 \cdot 10^{-11}/ 1,5 \cdot 10^{-11}/ 2 \cdot 10^{-11}/ 3,5 \cdot 10^{-11}/ 5 \cdot 10^{-11} \text{ mol}$. Ausgewertet wurde die SERS-Bande um 735 cm^{-1} (700 cm^{-1} bis 780 cm^{-1} ; Untergrundkorrektur \rightarrow Fläche bestimmt mit LabVIEW-Analyseprogramm & Origin).

Ein weiterer Einflussfaktor ist der pH-Wert der Analyt-Probe. Dazu wurden drei pH-Werte (pH-Wert = $\sim 1,5$; $\sim 6,0$ & $\sim 11,5$) untersucht. Dabei zeigte sich für Adenin, dass sich die Position der SERS-Bande der Ringatemschwingung von niedrigen zu hohen pH-Werten von 733 cm^{-1} , über 737 cm^{-1} bis zu 743 cm^{-1} verschiebt (Abbildung 43). Eine Verschiebung der Ringatemschwingung ist auch aus der Literatur für gelöstes Adenin bekannt, wobei dort der Effekt wesentlich geringer ausfällt.[153] Die Verschiebung beruht auf der veränderten elektronischen Struktur (Lewis-Strukturen) bei den jeweiligen pH-Werten. Die Messungen bei pH 1,5 zeigten starke Signalschwankungen und die Messungen bei pH 11,5 zeigten stark unterschiedliche Bandenformen. Daher ist es schwierig, eine Aussage zu treffen, wie stark der Einfluss des pH-Werts auf die Signalintensität ist. Bei den hier gemessenen Proben zeigten die Mittelwerte der Messungen, dass bei pH 11,5 eine kleinere und bei pH 1,5 eine ähnliche Signalfläche des Peaks wie bei pH 6 beobachtet wurde. Da aber bei pH 6 (pH-Wert AD in Wasser gelöst) eine wesentlich stabilere SERS-Bande (Intensität und Form) beobachtet wurde, wurde dieser pH-Wert auch weiter verwendet. Dazu wurden die Analyten in Wasser gelöst, ohne Zugabe von Puffer, Säure oder Base. In der Literatur ist für andere Analyten bereits eine starke pH-Wert-Abhängigkeit des SERS-Signals gezeigt worden.[60, 98, 101]

In den bisherigen Experimenten und Betrachtungen wurden immer Nanopartikel mit einem negativen Zeta-Potenzial auf der Oberfläche betrachtet worden. Aber auch die Polarität der Nanopartikeloberfläche hat einen Einfluss auf das detektierende SERS-Signal eines Analyten. Dazu wurden drei Analyten mit unterschiedlicher Polarität auf negativ und positiv polarisierten Silbernanopartikeln gemessen. Bei den Silbernanopartikeln handelt es sich um AgNP-3 mit negativem Zeta-Potenzial und AgNP-4 mit positivem Zeta-Potenzial. Die NP mit einem positiven Zeta-Potenzial wurden durch Beschichtungen von AgNP-3 mit Polyethylenimin hergestellt. Die so hergestellten positiven Nanopartikel zeigen eine deutliche Verschiebung

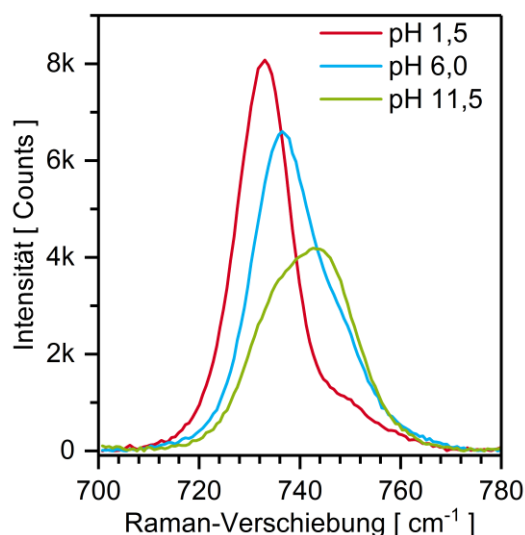


Abbildung 43 Messungen (LMA; GT = 1800 L mm⁻¹; DZ = 60 s) von AD bei verschiedenen pH-Werten (pH = 1,5 → 500 μL AD 10⁻⁴ M + 2 μL HNO₃ 69%; pH = 6 → AD in Wasser; pH = 11,5 → 500 μL AD 10⁻⁴ M + 2 μL NaOH 1,1 M) auf Testpunkten. Präpariert mit 30 min Trockenzeit Suspension und 30 min Trockenzeit Analyt und 0,5 μL von Suspension und Analyt-Lösung. Ausgewertet wurde die SERS-Bande der Ringatemschwingung von AD im Bereich von 700 cm⁻¹ bis 780 cm⁻¹ (Untergrundkorrektur → Fläche bestimmt mit LabVIEW-Analyseprogramm & Origin).

des Zeta-Potenzials vom Negativen ($\zeta \approx -34$ mV) ins Positive ($\zeta \approx +17$ mV) und eine Zunahme des hydrodynamischen Radius von etwa 93 nm auf 157 nm, was auf eine Beschichtung der Nanopartikel mit Polymer hinweist. Zudem zeigen sich auf TEM-Bildern keine großenteils relevanten Veränderungen der Nanopartikel (Tabelle 7). Für den Vergleich der negativ und positiv geladenen Nanopartikel wurden drei Analyten bei verschiedenen Polymerkonzentrationen auf den Nanopartikeln gemessen (Abbildung 44). Der positiv geladene Analyt (Ru(bipy)₃) zeigte kein Signal bei allen drei verwendeten Polymerkonzentrationen (Abbildung 44). Der näherungsweise neutrale Analyt (AD) zeigte bei allen drei Polymerkonzentrationen eine geringere Signalintensität im Vergleich zu den negativ polarisierten Nanopartikeln (35 % ± 7 %, Abbildung 44). Der negativ geladene Analyt (SRB) zeigte unterschiedliche Signalintensitäten bei den verschiedenen Polymerkonzentrationen (Abbildung 44). Die größte Signalintensität wurde bei einem Polymereinsatz von 600 μL beobachtet. Die Gründe für die veränderten Signalintensitäten sind die Anziehung und Abstoßung der Analyten zur Nanopartikeloberfläche, die veränderte Belegung der Oberfläche und die veränderte Umgebung auf der Nanopartikeloberfläche für die Analyten. Positive Analyten werden von positiv geladenen Nanoparti-

keln (Oberflächenbeschichtung) abgestoßen und haben damit einen zu großen Abstand vom Nanopartikel, um ein SERS-Signal zu zeigen. Bei einem negativen Analyten ist es genau umgekehrt. Weitere Betrachtungen dazu finden sich in Kapitel 4.3.1.

Zudem muss darauf hingewiesen werden, dass die positiv beschichteten Nanopartikel keine lange Haltbarkeit zeigen. Nach zwei Tagen zeigte sich bereits eine Signalabnahme von einem Drittel und nach zwei Wochen war die SERS-Signalintensität, die die Nanopartikel lieferten, auf unter 30 % abgefallen (Tabelle 9). Daher sollten die positiven Nanopartikelsuspensionen immer frisch für die SERS-Messungen präpariert werden.

Zudem wurde auch bei diesen Messungen eine Verschiebung der Ringatemschwingung des Adenins beobachtet. Die positiven Nanopartikel zeigen eine Verschiebung zu kleineren Wellenzahlen von 731 cm^{-1} bis 732 cm^{-1} . Bei SRB wurde keine eindeutige Verschiebung der ausgewerteten Bande beobachtet.

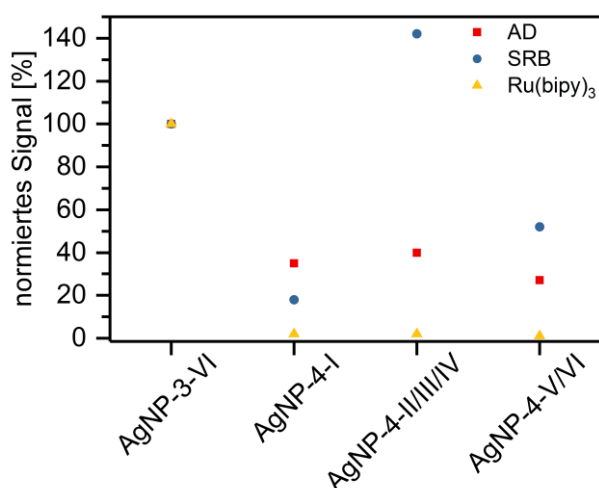


Abbildung 44 Messungen (LMA; $GT = 1800\text{ L mm}^{-1}$; $DZ = 60\text{ s}$) von AD, SRB und Ru(bipy)_3 mit negativ (AgNP-3) und positiv (AgNP-4) polarisierten Nanopartikeln. Präparation der Proben nach Standardmethode mit einer Analytkonzentration von 10^{-4} M . Ausgewertet wurde für jeden Analyten je eine SERS-Bande, für AD bei 735 cm^{-1} (700 cm^{-1} bis 780 cm^{-1}), für SRB bei 1280 cm^{-1} (1260 cm^{-1} bis 1298 cm^{-1}) und für Ru(bipy)_3 bei 1488 cm^{-1} (1469 cm^{-1} bis 1504 cm^{-1} ; Untergrundkorrektur \rightarrow Fläche bestimmt mit LabVIEW-SERS-Tool & Origin). Die Signalflächen sind jeweils auf eine Messung des jeweiligen Analyten mit AgNP-3-VI normiert.

Tabelle 9 Messung (LMA; GT = 1800 L mm⁻¹; DZ = 60 s) von AD und SRB auf positiven Nanopartikeln (AgNP-4-II) an verschiedenen Tagen. Präparation nach Standardmethode mit einer Analyt-Konzentration von 10⁻⁴ M. Ausgewertet wurde für jeden Analyten je eine SERS-Bande, für AD bei 735 cm⁻¹ (700 cm⁻¹ bis 780 cm⁻¹) und für SRB bei 1280 cm⁻¹ (1260 cm⁻¹ bis 1298 cm⁻¹; Untergrundkorrektur → Fläche bestimmt mit LabVIEW-SERS-Tool & Origin). Die Signalflächen sind jeweils auf die Messung des Analyten am ersten Tag normiert.

Zeit [Tage]	AD Signalintensität [%]	SRB Signalintensität [%]
1	100	100
2	--	66
14	26	19

Der letzte Einflussfaktor, der hier betrachtet wird, ist die Reihenfolge, in der die Nanopartikel und der Analyt aufgetragen wurden. Wurde die Reihenfolge zur Standardmethode vertauscht, wurden bei Adenin nur etwa 60 % des Signals beobachtet (Tabelle 10). Bei den Testpunkt-Proben wurde immer die Reihenfolge der Standardmethode eingehalten. Bei den Messungen der μ PADs wurde aufgrund der Präparation die Reihenfolge zum Teil vertauscht, wodurch vermutlich Signalunterschiede aufgrund der Auftragsreihenfolge entstanden sind.

Tabelle 10 Messungen (LMA; GT = 1800 L mm⁻¹; DZ = 60 s) von Adenin (c = 10⁻⁴ M) an einem Tag. Präparation nach Standardmethode und mit vertauschter Auftragsreihenfolge. Ausgewertet wurde die SERS-Bande bei 735 cm⁻¹ (700 cm⁻¹ bis 780 cm⁻¹; Untergrundkorrektur → Fläche bestimmt mit LabVIEW-SERS-Tool & Origin). Die Signalflächen wurden auf die Messung der Standardmethode normiert.

Reihenfolge	Signal [%]	Raman-Verschiebung [cm ⁻¹]
NP-Analyt	100	734
Analyt-NP	62	734

4.2.3 Analyten für die Messungen zur Reproduzierbarkeit und das Modellsystem

Drei Analyten wurden für die im nächsten Kapitel beschriebenen Messungen zur Reproduzierbarkeit und als Modellsystem für die μ PADs verwendet. Hier werden einige Randdaten dieser Analyten aufgeführt. Bei den Analyten handelt es sich um Adenin(= AD), Tris(2,2'-bipyridyl)dichlororuthenium(II) (= $\text{Ru}(\text{bipy})_3$) und Sulforhodamin B (= SRB; Abbildung 45 D). Die Zusammenstellung dieser drei Analyten beruht darauf, dass ein nicht-fluoreszierender und neutraler Analyt in einer Mischung von geladenen und fluoreszierenden Analyten nachgewiesen werden soll. Alle drei Stoffe haben einen unterschiedlichen Ladungszustand, $\text{Ru}(\text{bipy})_3$ ist positiv, AD neutral und SRB negativ. Somit sind beide Ladungsvarianten im Vergleich zu Adenin abgedeckt.

Die Absorptionsspektren von allen drei Analyten zeigen eine starke Überlagerung der Absorption im Bereich zwischen 200 nm und 450 nm (Abbildung 45 A-C). Daher können sie dort nicht gut identifiziert oder quantifiziert werden. Einzig SRB zeigt eine separate Absorptionsbande im Bereich von 450 nm bis 600 nm.

Über die Fluoreszenz könnten $\text{Ru}(\text{bipy})_3$ und SRB nachgewiesen werden, aber eine Quantifizierung wäre auch hier schwierig. Die Emissionen der beiden verwendeten Farbstoffe sind in den Bereichen von ca. 550 nm bis über den Messbereich bei 800 nm hinaus für $\text{Ru}(\text{bipy})_3$ und von ca. 550 nm bis 750 nm für SRB (Abbildung 45 B-C). Zudem könnte AD über die Fluoreszenz gar nicht detektiert werden.

Hingegen zeigen alle drei Analyten gut definierte Raman-Spektren (Abbildung 46 A – C je oberes Spektrum), die in guter Übereinstimmung mit der Literatur sind.[63, 101, 154] Die gemessenen SERS-Spektren in Suspension (Abbildung 46 A – C untere Spektren) mit AgNP-3 zeigen für AD und $\text{Ru}(\text{bipy})_3$ relativ ähnliche Bandenpositionen wie die Raman-Spektren. Die Abweichung bei den Bandenpositionen entstehen durch den Einfluss des SERS-Effektes, der auch zu einer Veränderung der relativen Raman-Signal-Intensitäten des Analyten führen kann. Für die weiteren Analysen wurden verschiedene Banden in den Spektren ausgewählt, bei AD die Bande 736 cm^{-1} (Ringatemschwingung) und für $\text{Ru}(\text{bipy})_3$ die Banden 1046 cm^{-1} , 1321 cm^{-1} und 1491 cm^{-1} (Abbildung 46 A & B untere Spektren). Für SRB wurde unter den SERS-Bedingungen in Suspension ein Spektrum beobachtet, welches sich in den Bandenpositionen stark vom Raman-Spektrum unterscheidet. Daher ist hier noch zum Vergleich ein SERS-Spektrum von einer Testpunkt-Messung auf Papier mit aufgeführt, welches

relativ ähnliche Banden zum Raman-Spektrum zeigt und in guter Übereinstimmung mit der Literatur ist.[101] Warum das Suspensionsspektrum bei SRB ein stark verändertes Spektrum zeigt wurde nicht weiter untersucht, da sich diese Arbeit auf Messungen auf Papieren konzentriert. Daher wurden die zu analysierenden Banden für SRB im SERS-Spektrum der Testpunkt-Probe bestimmt. Die genutzten Banden sind 1280 cm^{-1} und 1649 cm^{-1} . Eine Übersicht von Raman- und SERS-Banden der Analyten in Pulverform, in SERS-Suspensionen und auf Testpunkten ist in Tabelle 11 aufgeführt.

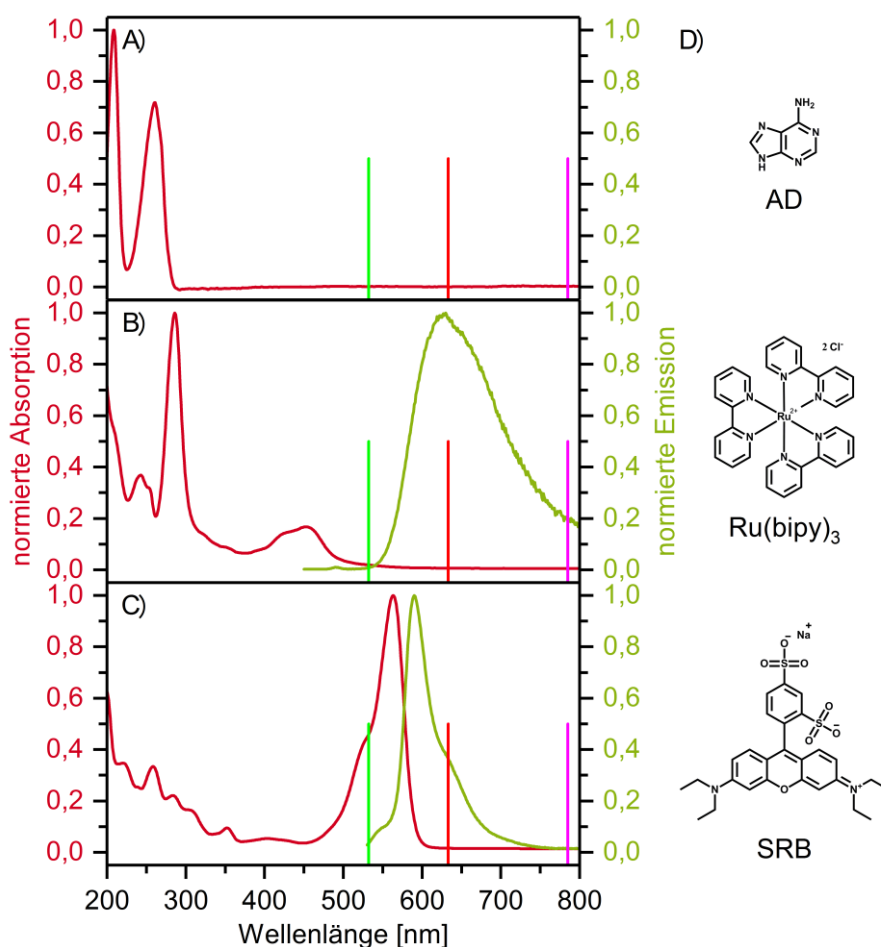


Abbildung 45 A) bis C) zeigen die normierten Absorptions- (rote Linien) und Emissionspektren (grüne Linien) von den drei Analyten (A = AD; B = Ru(bipy)₃; C = SRB). Gemessen in Wasser bei einer Konzentration von 10^{-5} M und normiert auf den Maximalwert eines Spektrums im gemessenen Bereich. Die drei vertikalen Linien in den Spektren sind die genutzten Laserwellenlängen (grün = 532 nm; rot = 633 nm; pink = 785 nm). D) sind die Strukturformeln der drei Analyten jeweils neben ihren Spektren mit ihren Abkürzungen.

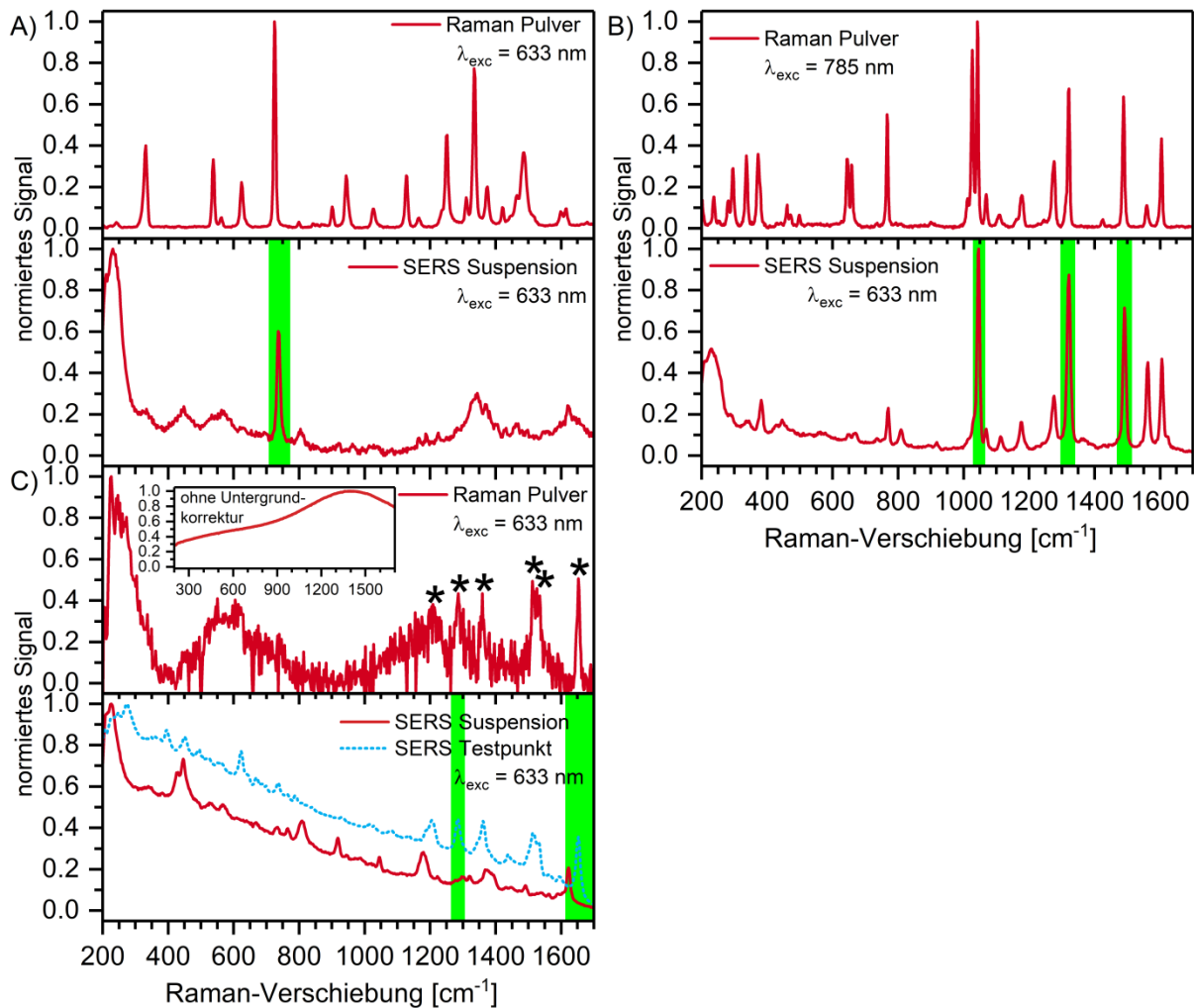


Abbildung 46 A) bis C) Spekten der Analyt-Pulver (A = AD; B = Ru(bipy)₃; C = SRB, obere Spektren) und Analyten in Nanopartikelsuspension (untere Spektren) auf einem Objektträger am LabRAM-Raman-Mikroskop gemessen. Präparation der SERS-Suspensionen: 490 µL Nanopartikelsuspension (AgNP-3) wurden mit 5 µL Natriumchlorid-Lösung ($c = 1 \text{ M}$) und dann mit 5 µL Analyt-Lösung ($c = 10^{-4} \text{ M}$) versetzt, was eine Endanalytkonzentration von 10^{-6} M ergab. Die Messparameter für die einzelnen Analyt-Pulver sind: AD; LWL = 633 nm; OB = 10x; GT = 300 L mm⁻¹; LAS = 0 %; DZ = 1 s; SPM = 10/ Ru(bipy)₃; LWL = 785 nm; OB = 10x; GT = 300 L mm⁻¹; LAS = 0 %; DZ = 0,4 s; SPM = 50/ SRB; LWL = 633 nm; OB = 10x; GT = 300 L mm⁻¹; LAS = 90 %; DZ = 0,5 s; SPM = 100. Die Messparameter für alle drei SERS-Suspensionen sind: LWL = 633 nm; OB = 60x Immersionsobjektiv; GT = 300 L mm⁻¹; LAS = 0 %; DZ = 1 s; SPM = 10. Testpunkt präpariert mit AgNP-3 (V = 0,5 µL; 50-fach konzentriert; 30 min trocknen) und SRB-Lösung (V = 0,5 µL; $c = 2,5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$; mindestens 30 min trocknen).

Messparameter für Testpunkte sind: LWL = 633 nm; OB = 10x; GT = 300 L mm⁻¹; LAS = 90 %; DZ = 0,2 s; SPM = 50. Alle Spektren wurden Untergrund-korrigiert (Origin → Abzug einer konstanten Linie) und auf das maximale Signal im Messbereich normiert. Ausnahme SRB Pulver-Spektrum Untergrundkorrektur (Origin → Asymmetrische Glättung der kleinsten Quadrate / AsLS).

Tabelle 11 Raman- und SERS-Banden von AD, Ru(bipy)₃ und SRB gemessen von Pulver- und SERS-Suspensionen und auf Testpunkten (Auswertung der Spektren aus Abbildung 46 und Abbildung 47).

Raman-Verschiebung [cm ⁻¹]								
AD			Ru(bipy) ₃			SRB		
Raman-Pulver	SERS-Suspension	SERS-Testpunkt	Raman-Pulver	SERS-Suspension	SERS-Testpunkt	Raman-Pulver	SERS-Suspension	SERS-Testpunkt
331		325	373	382	378		---	393
624		625	644				---	446
724	736	732	658		664		---	618
944			766	770	764		---	732
1028			1026				---	1203
1127		1124	1042	1046	1040	1285	---	1282
1252			1178	1177	1169	1359	---	1358
1335	1343	1327	1276	1276	1271		---	1435
1374	1368	1367	1321	1321	1315	1512	---	1509
1465		1455	1488	1491	1485	1525	---	1526
1599			1560	1562	1557		---	1593
1616	1620		1604	1605	1600	1652	---	1649

Zur Überprüfung, ob es sich bei den Messungen der Analyten auf Testpunkten auf Papier um SERS-Signale oder vielleicht um resonante Raman-Signale handelt, wurden Testpunkte mit und ohne Nanopartikelbeschichtung hergestellt und mit den gleichen Analyt-Lösungen be- tropft. Wie aus Abbildung 47 gut ersichtlich wird, handelt es sich bei allen drei Analyten um SERS-Signale. Bei den Testpunkten ohne Nanopartikel konnte kein Analyt-Signal identifiziert werden. SRB zeigt im Vergleich zu den anderen Analyten ein kleineres Verhältnis von SERS-Signal zu Untergrund. Dies ist auf die sehr hohe Konzentration von SRB und das relativ starke Fluoreszenz-Signal bei der genutzten Laserwellenlänge zurückzuführen.

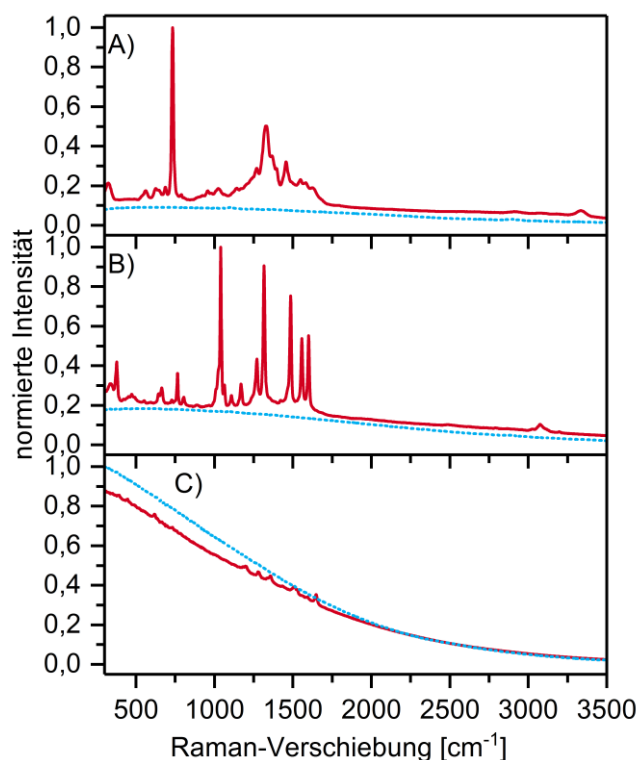


Abbildung 47 Spektren von den drei Analyten (A = AD; B = Ru(bipy)₃; C = SRB) auf Testpunkten mit (rote Linien) und ohne Nanopartikelsuspension (blau gepunktete Linien). Die mit Nanopartikel beschichteten Testpunkte sind nach der Standardmethode hergestellt und bei denen ohne Nanopartikel wurde einfach nur der Schritt mit der Nanopartikelbeschichtung weggelassen. Die Konzentrationen der Analyt-Lösungen sind AD $1 \cdot 10^{-3}$ M und Ru(bipy)₃ und SRB je $2,4 \cdot 10^{-3}$ M. Gemessen wurde am LabRAM-Raman-Mikroskop mit denselben Parametern für mit und ohne Nanopartikel: AD; LWL = 633 nm; OB = 10x; GT = 300 L mm⁻¹; LAS = 0 %; DZ = 1 s; SPM = 10/ Ru(bipy)₃ selbe wie AD bloß DZ = 0,5 s/ SRB; LWL = 633 nm; OB = 10x; GT = 300 L mm⁻¹; LAS = 90 %; DZ = 0,4 s; SPM = 20. Alle Spektren sind auf das maximale Signal beider Messungen eines Analyten im Messbereich normiert.

Aufgrund der Schwierigkeiten der Messung von SRB wurden SERS-Spektren der Analyten bei anderen Anregungswellenlängen aufgenommen. Die Analyten wurden in der gleichen Konzentration und bei den gleichen Messbedingungen bei den drei Wellenlängen 532, 633 und 785 nm gemessen und sind in Abbildung 48 dargestellt. Bei 532 nm zeigen sowohl SRB als auch Ru(bipy)₃ eine sehr starke Fluoreszenz (Abbildung 48 A). SRB sättigt sogar den Detektor bei den vergleichenden Einstellungen und selbst bei veränderten Einstellungen kann

zwar die Fluoreszenzbande bestimmt werden, aber kein SERS-Signal von SRB identifiziert werden. Bei der größeren Wellenlänge von 785 nm wurden für alle drei Stoffe schwächere SERS-Signale beobachtet. Da die drei Analyten bei einer Anregungswellenlänge von 633 nm die am besten zu analysierenden SERS-Signale zeigen, wurde diese Wellenlänge für die weiteren Untersuchungen ausgewählt und auch für den Labormessaufbau verwendet.

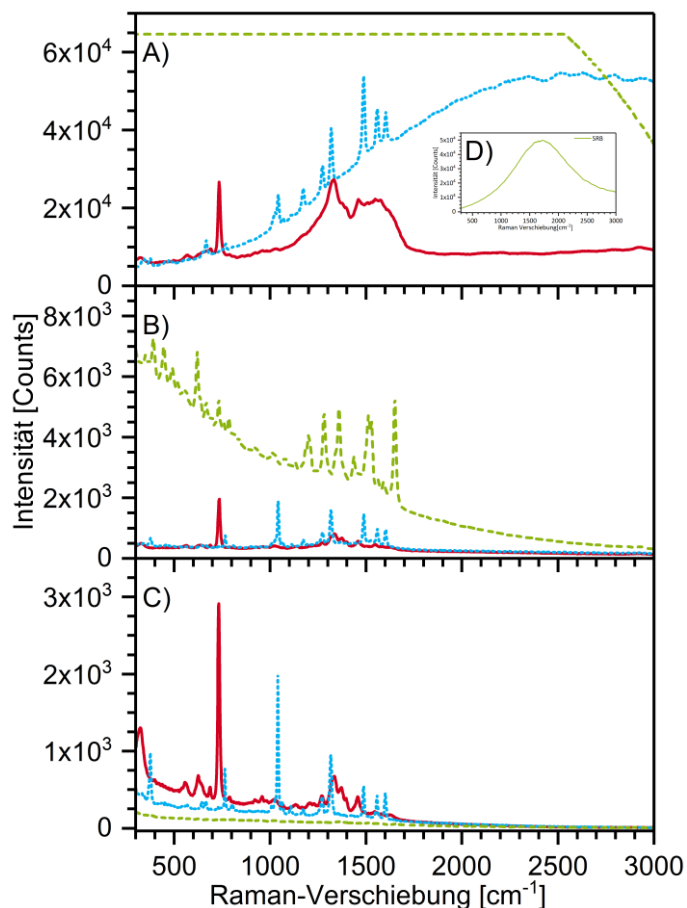


Abbildung 48 A) bis C) SERS-Spektren der drei Analyten bei verschiedenen Anregungswellenlängen. Die Präparation der Proben ist nach der Standardmethode und die Konzentration der Analyten ist $1 \cdot 10^{-4}$ M. Gemessen wurde am LabRAM-Raman-Mikroskop und die Messparameter sind für alle drei Analyten und Wellenlängen gleich: LWL = 532/ 633/ 785 nm; OB = 10x; GT = 300 L mm⁻¹; LAS = 99 %; DZ = 2 s; SPM = 10. D) ist dasselbe wie A) aber veränderte Messparameter: LWL = 532 nm; OB = 10x; GT = 300 L mm⁻¹; LAS = 99,99 %; DZ = 0,5 s; SPM = 20.

4.2.4 Reproduzierbarkeit von SERS-Messungen auf Testpunkten

Mit den drei besprochenen Analyten wurde die Reproduzierbarkeit der SERS-Messungen auf Testpunkten auf Papier überprüft. Dazu wurden alle drei Analyten bei den Konzentrationen von 10^{-4} M und 10^{-5} M über einen längeren Zeitraum von ca. einem halben Jahr an verschiedenen Tagen und mit verschiedenen Nanopartikelansätzen gemessen.

In der Tabelle 12 sind die relativen Standardabweichungen (RSD) der Messungen der drei Analyten über einen Zeitraum von 78 Tagen aufgeführt. Die Messungen wurden mit zwei Nanopartikelansätzen und für AD mit drei, Ru(bipy)₃ mit zwei und SRB mit einem Analyt-Ansatz gemessen. Die mittlere RSD über diesen Zeitraum über alle Messungen liegt bei gerundeten 16 %. Weiter ist zu erkennen, dass die RSD für die Konzentration 10^{-4} M immer geringer ist als die bei 10^{-5} M. Dies liegt vermutlich daran weil bei 10^{-5} M geringste Konzentrationsänderungen zu starken Signaländerungen führen, was zu größeren Schwankungen im gemessenen Signal führen kann. Für SRB wurde eine RSD von bis zu 24 % im betrachteten Zeitraum beobachtet. Des Weiteren wurden Abweichungen von Einzelmessungen zum Mittelwert von bis zu 69 % beobachtet. Daher sollte immer bei den Messungen über mehrere Werte gemittelt werden. Bei den meisten Messungen wurde daher der Mittelwert aus vier oder sechs Proben bestimmt und mit diesem weiter gearbeitet.

Tabelle 12 RSD und die Unterschiede zu den maximalen und minimalen gemessenen Signalen der Flächen der angegebenen SERS-Banden von Einzelmessungen über einen Zeitraum von 78 Tagen. Dabei ist in der Spalte Tag die Anzahl der Messtage angegeben. Gemessen wurden zwei Konzentrationen 10^{-4} M und 10^{-5} M. In dem angegebenen Zeitraum herrschten relativ konstante Bedingungen an den Messtagen von $T = 22,7 \text{ °C} \pm 0,2 \text{ °C}$ (max. delta-T = $0,8 \text{ °C}$) und von $RH = 25,0 \% \pm 2,1 \%$ (max. delta-RH = $9,0 \%$).

	RSD Fläche [%]		Fläche MAX [%]		Fläche MIN [%]		Tage
Analyt Konzentration	10 ⁻⁴ M	10 ⁻⁵ M	10 ⁻⁴ M	10 ⁻⁵ M	10 ⁻⁴ M	10 ⁻⁵ M	
AD (734 cm ⁻¹)	6	21	15	47	-13	-58	14
RuBiPy (1041 cm ⁻¹)	12	18	18	39	-31	-45	12
RuBiPy (1316 cm ⁻¹)	10	15	15	43	-25	-39	12
RuBiPy (1487 cm ⁻¹)	10	12	19	20	-25	-35	12
SRB (1279 cm ⁻¹)	21	22	37	66	-35	-35	11
SRB (1649 cm ⁻¹)	20	24	37	69	-35	-36	11
Mittelwert je Konzentration	13	19	24	47	-27	-41	
Mittelwert über alle	16		35		-34		

In Tabelle 12 sind die Daten für etwa 2,5 Monate angegeben. Für einen Zeitraum von ca. sieben Monaten sind die Daten in den nachfolgenden Diagrammen für AD (Abbildung 49); Ru(bipy)₃ (Abbildung 50) und SRB (Abbildung 51) dargestellt. Dabei zeigt sich vor allem bei AD und SRB, dass die Mittelwerte der Signalfächen sich mit verschiedenen Nanopartikelansätzen auch stark verändern können. In den hier betrachteten Zeitbereichen zeigt sich eine Signalabnahme von bis zu 27 % bei AD (10^{-4} M; Unterschied Verhältnis vom Zeitraum 21.04.-04.08.2017 zu 03.01.-21.03.2017). Dies wird auch von Messungen die jeweils an einem Tag mit verschiedenen Nanopartikelansätzen gemacht werden unterstützt. Die Messungen vom 26.06.2017 und 28.07.2017 zeigen, dass für die Ansätze AgNP-3-V bis VIII. Dabei beträgt der jeweilige Unterschied z.B. zwischen Ansätzen AgNP-3-V und VI an beiden Tagen etwa 23 % Signalintensität für AD. In den Intensitäten der Spektren kann wiederum der Einfluss der Luftfeuchtigkeit beobachtet werden. So war am 28.07.2017 die RH um etwa 10 % höher als am 26.06.2017 und die Signalintensitäten von AgNP-3-V und VI von diesen Tagen zeigen einen Anstieg des SERS-Signals von ca. 11 %. Wobei hier nicht von einer 1 zu 1 Korrelation ausgegangen werden sollte. Weiter zeigt sich ein Problem mit AD als Standard-Analyt, da sich AD mit der Zeit in Lösung zersetzt oder umwandelt, selbst bei Lagerung im Kühlschrank. Daher sollten AD-Lösungen ausgehend von den hier gezeigten Daten nicht länger als ca. einen Monat verwendet werden.

Ru(bipy)₃ zeigt aus der Tabelle 12 und Abbildung 50 die kleinsten RSD für 10^{-5} M und bei den Messungen über die sieben Monate zeigt es zudem die kleinsten Abweichungen der Mittelwerte zwischen den beiden Zeiträumen. Daher sollten Ru(bipy)₃ und AD für zukünftige Arbeiten als Referenz genutzt werden, da Ru(bipy)₃ ein stabiler Analyt ist, der ein relativ stabiles Signal liefert und mit AD sehr gut Veränderungen oder Unterschiede z.B. in Nanopartikelansätzen angezeigt werden können.

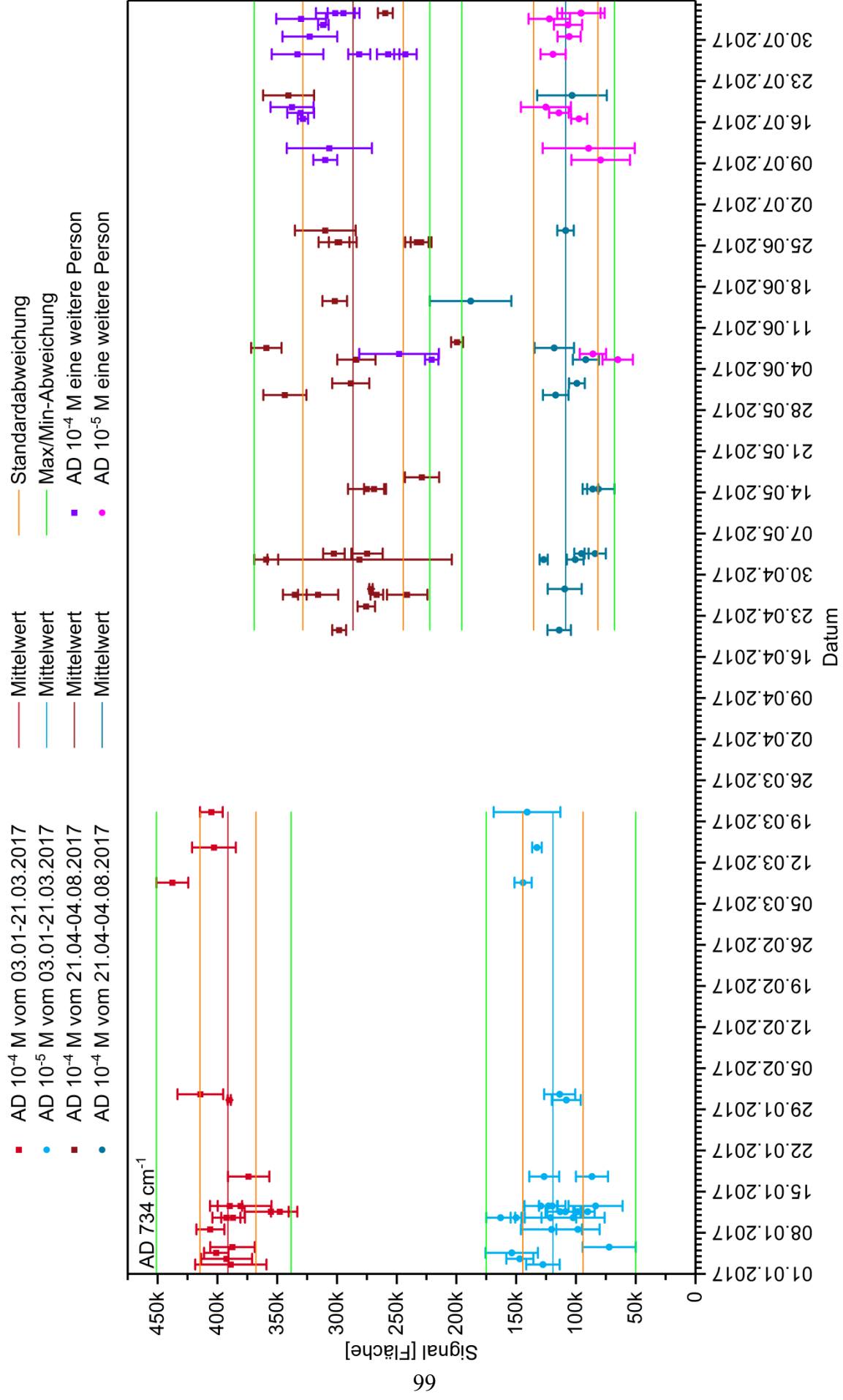


Abbildung 49 Messungen von AD bei zwei Konzentrationen im Zeitraum vom 03.01.2017 bis 04.08.2017. Dargestellt sind die Mittelwerte der Flächen des Peaks bei 734 cm^{-1} (Bereich 700 cm^{-1} bis 780 cm^{-1}) aus jeweils vier oder sechs Einzelmessungen. Die Fehlerbalken sind die maximalen Abweichungen zum jeweiligen Mittelwert. Die roten Quadrate stehen für Messungen von 10^{-4} M und die blauen Kreise für Messungen von 10^{-5} M . Die lila und rosa Symbole sind von Messungen einer zweiten Person. Die bestimmten Mittelwerte, Standardabweichungen und maximalen/minimalen Signale sind jeweils für den angegebenen Zeitbereich aus allen farblich entsprechend gekennzeichneten Messungen berechnet worden. Gemessen wurden Testpunkte am LMA ($\text{GT} = 1800\text{ L mm}^{-1}$) und präpariert nach der Standardmethode (AgNP-3).

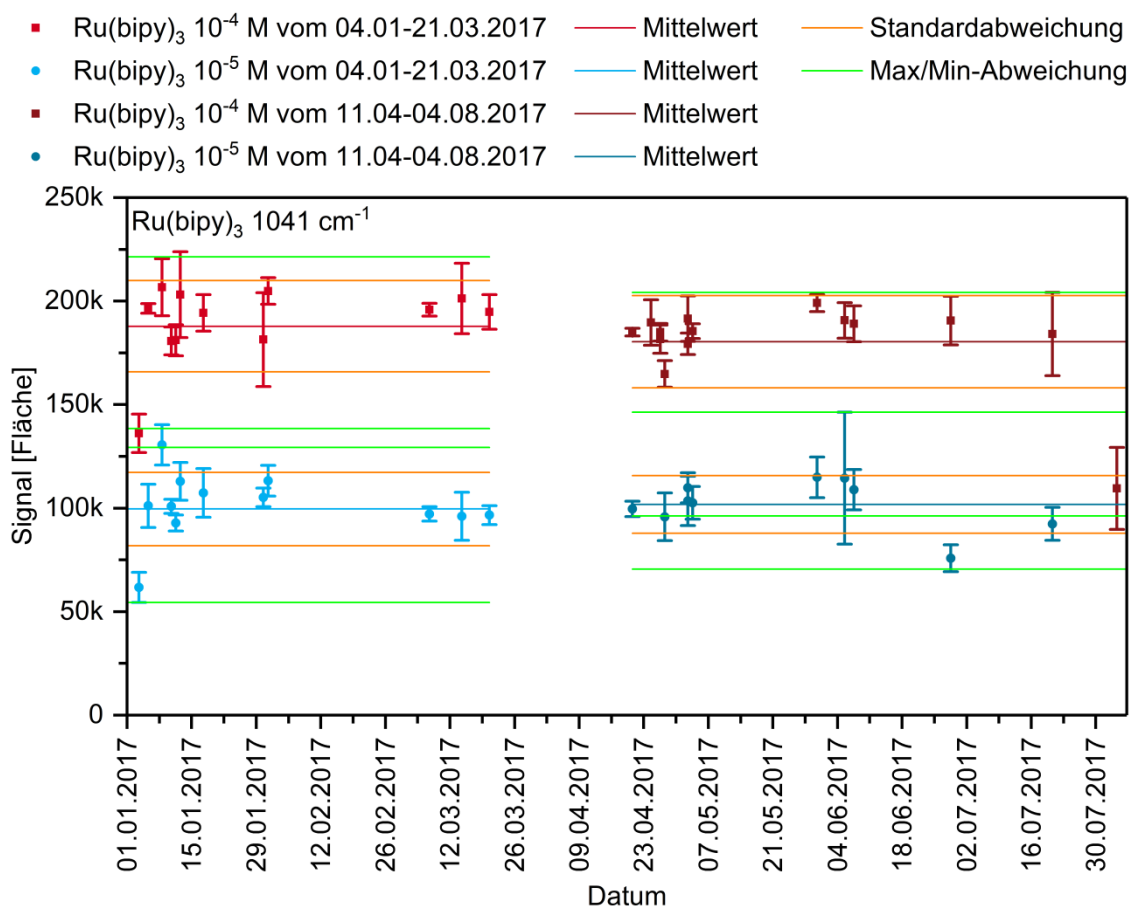


Abbildung 50 Messungen von Ru(bipy)₃ bei zwei Konzentrationen im Zeitraum vom 04.01.2017 bis 04.08.2017. Dargestellt sind die Mittelwerte der Flächen des Peaks bei 1041 cm^{-1} (Bereich 1029 cm^{-1} bis 1054 cm^{-1}) aus jeweils vier oder sechs Einzelmessungen. Die Fehlerbalken sind die maximalen Abweichun-

gen zum jeweiligen Mittelwert. Die roten Quadrate stehen für Messungen bei 10^{-4} M und die blauen Kreise für Messungen bei 10^{-5} M. Die bestimmten Mittelwerte, Standardabweichungen und maximalen/minimalen Signale sind jeweils für den angegebenen Zeitbereich aus allen farblich entsprechend gekennzeichneten Messungen berechnet worden. Gemessen wurden Testpunkte am LMA ($GT = 1800 \text{ L mm}^{-1}$) und präpariert nach der Standardmethode (AgNP-3).

SRB ist hingegen ungeeignet für Überprüfungen der Reproduzierbarkeit von SERS-Messungen, weil es ein stark schwankendes Signal zeigt. Dies ist vermutlich auf die geringere Affinität des Analyten (Tabelle 13) zu den hier verwendeten Nanopartikeln zurückzuführen.

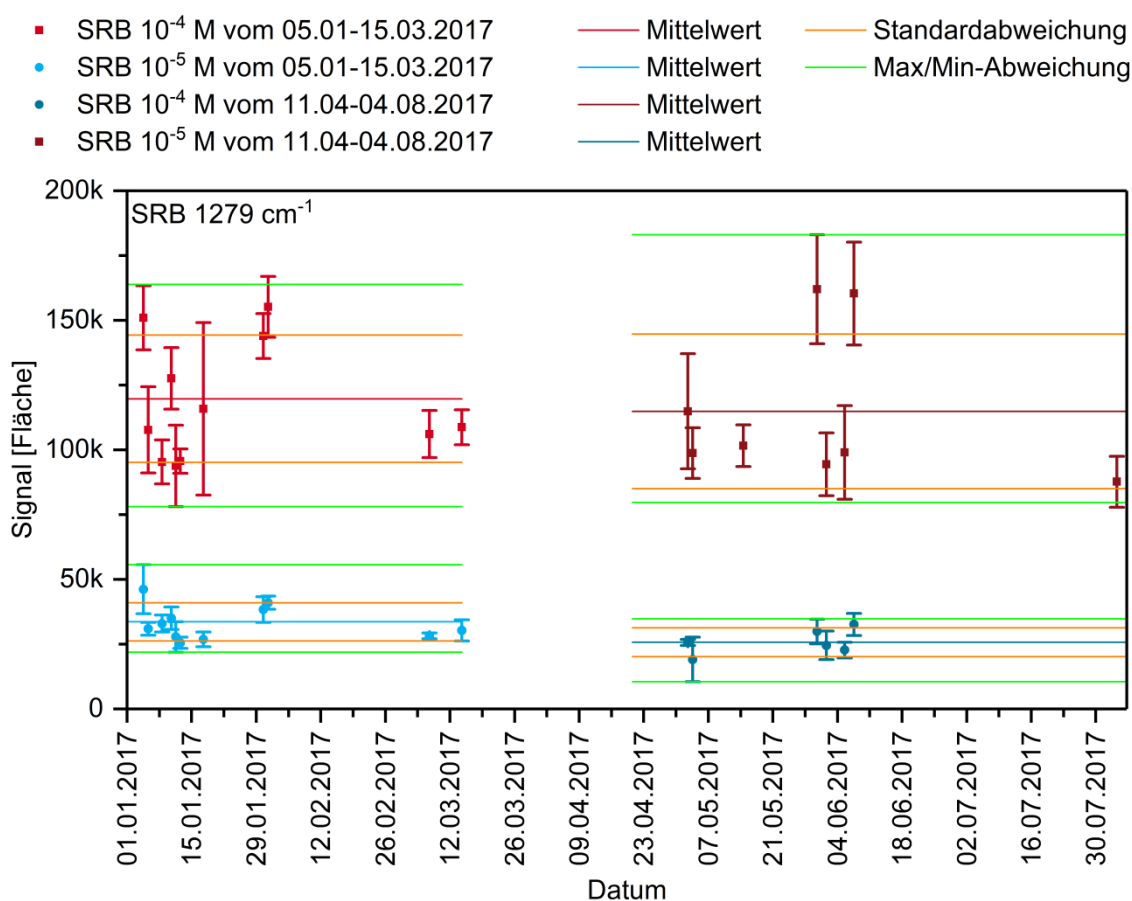


Abbildung 51 Messungen von SRB bei zwei Konzentrationen im Zeitraum vom 05.01.2017 bis 04.08.2017. Dargestellt sind die Mittelwerte der Flächen des Peaks bei 1278 cm^{-1} (Bereich 1260 cm^{-1} bis 1297 cm^{-1}) aus jeweils vier oder sechs Einzelmessungen. Die Fehlerbalken sind die maximalen Abweichungen zum jeweiligen Mittelwert. Die roten Quadrate stehen für Messungen

bei 10^{-4} M und die blauen Kreise für Messungen bei 10^{-5} M. Die bestimmten Mittelwerte, Standardabweichungen und maximalen/minimalen Signale sind jeweils für den angegeben Zeitbereich aus allen entsprechend farblich gekennzeichneten Messungen berechnet worden. Gemessen wurden Testpunkte am LMA ($GT = 1800 \text{ L mm}^{-1}$) und präpariert nach der Standardmethode (AgNP-3).

Für die Überprüfung des Einfluss der Durchführung der Messung durch verschiedene Personen, sind im nachfolgenden Diagramm Vergleichsmessungen von fünf Personen aufgeführt (Abbildung 52). Die Messungen wurden alle an ein und demselben Tag nacheinander durchgeführt, wobei es sich bei Person 1 und 6 um Messungen von mir handelt, um zu prüfen ob eine Veränderung im Laufe des Tages zu beobachten ist. Bei den Personen 2 bis 5 handelt es sich um Gruppenmittglieder des Fachbereiches. Sie haben diese Messungen an diesem Tag nach einer Erklärung der Vorgehensweise einmalig getestet. Die Messungen zeigen zwei Punkte, zum einen großen Signalunterschied der Mittelwerte zwischen den Personen und zum anderen zeigen die Messungen bei den Personen 3 bis 5 meist einen höheren maximalen Fehler als bei meinen Messungen. Ausnahme ist Person zwei, welche ähnliche Messergebnisse und Fehlerbereiche erzielte. Beide Punkte lassen sich darauf zurückzuführen, dass die Präparation einer gewissen Routine bedarf, die meist erst bei mehrfacher Ausführung der Präparation erreicht wird. Dies zeigt sich auch bei den Messungen zur Reproduzierbarkeit einer zweiten Person in Abbildung 49, die hier beobachteten Messdaten passen zu den von mir gemessenen Daten. Die Probenpräparation sollte daher vor signifikanten Messungen geübt werden, um eine gewisse Routine zu bekommen und so stabilere Messergebnisse zu erhalten.

Ausgehend von den wiederholten Messungen über einen längeren Zeitraum und den Messungen von verschiedenen Personen stellt sich die Frage, wo die größten Fehlerbeiträge in den Messungen liegen. Zur näheren Betrachtung der einzelnen Beiträge zum Fehler, wurde die relative Unsicherheit (englisch: **relative uncertainty** = RU) bei der Messung von AD bei 10^{-4} M und 10^{-5} M bestimmt. Dabei wurde von Messungen ausgegangen, die mit der Standardmethode und ansonsten konstanten Umgebungsbedingungen (z.B. RH), einem Nanopartikelansatz und einer konstanten Konzentration an Nanopartikeln in Suspension durchgeführt wurden (Stabilität und Aufkonzentration). Weiter wurde von der Langmuir-Isothermen (Gl. 31) als Modell für die Bestimmung der relativen Unsicherheit ausgegangen. Da in diese Gleichung und in den Gleichungen zur Berechnung der Parameter vorwiegend Multiplikative- und Quotienten-Gleichungen vorkommen kann hier die relativen Unsicherheit als Summe über die

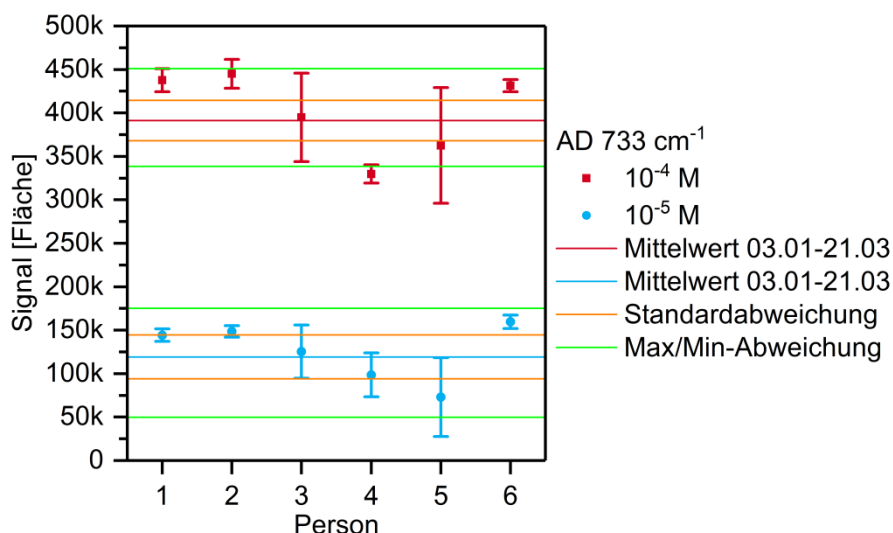


Abbildung 52 Messung von AD von fünf verschiedenen Personen. Bei Person 1 und 6 handelt es sich um Messungen von mir selbst und Personen 2 bis 5 sind die Probanden. Bestimmt wurde die Fläche der SERS-Bande 733 cm^{-1} (Bereich 700 cm^{-1} bis 780 cm^{-1}). Jeder Messpunkt ist der Mittelwert von vier Einzelmessungen und der angegebene Fehler ist die maximale Abweichung vom Mittelwert. Die Linien für Mittelwerte, Standardabweichungen und maximalen/minimalen Abweichungen stammen aus den Messungen zur Reproduzierbarkeit von AD im Zeitbereich 03.01.-21.03.2017. Gemessen wurden Testpunkte am LMA ($\text{GT} = 1800\text{ L mm}^{-1}$) und präpariert nach der Standardmethode (AgNP-3).

Quadrate der relativen Unsicherheiten bestimmt wurden. Die gesamte relative Unsicherheit setzt sich aus der Präparation der Analyt-Probe (A), der Herstellung der Testpunkte ohne Nanopartikelbeschichtung (B), dem Aufbringen der Nanopartikelsuspension und der Analyt-Lösung (C) und der Signalstabilität des Messsystems (D) zusammen.

A. Präparation der Analyt-Lösung:

Einwaage von $3,33\text{ mg} \pm 0,01\text{ mg}$ AD Pulver in einem Glasgefäß.

$$u_{rel}^m{}^2 = (0,3\%)^2 = 0,1\%{}^2$$

Lösen der Einwaage mit zwei mal 5 mL Wasser (Eppendorf Research plus verstellbar $0,5\text{ mL} - 5,0\text{ mL} \pm 38\text{ }\mu\text{L}$).

$$u_{rel}^w{}^2 = u_{rel}^{w1}{}^2 + u_{rel}^{w2}{}^2 = (0,8\%)^2 + (0,8\%)^2 = 1,3\%{}^2$$

Verdünnung der Analyt-Lösungen ($\text{va1} = \text{Eppendorf Research plus verstellbar } 0,1\text{ mL} - 1,0\text{ mL} \pm 6\text{ }\mu\text{L}$ or $\text{va2\&3} = \text{Eppendorf Research plus verstellbar } 10\text{ }\mu\text{L} - 100\text{ }\mu\text{L}$

$\pm 1 \mu\text{L}$) in zwei oder drei Schritten mit Wasser (vw1 oder vw2&3 Eppendorf Research plus verstellbar $0,1 \text{ mL} - 1,0 \text{ mL} \pm 6 \mu\text{L}$ oder $\pm 8 \mu\text{L}$) auf 10^{-4} M ($u_{rel}^{pr\ddot{a}-4^2}$) und 10^{-5} M ($u_{rel}^{pr\ddot{a}-5^2}$).

$$\begin{array}{lll} u_{rel}^{va1} = 1,5 \% (410 \mu\text{L}) & u_{rel}^{va2} = 1,0 \% (100 \mu\text{L}) & u_{rel}^{va3} = \\ 1,0 \% (100 \mu\text{L}) & & \\ u_{rel}^{vw1} = 1,0 \% (590 \mu\text{L}) & u_{rel}^{vw2} = 0,9 \% (900 \mu\text{L}) & u_{rel}^{vw3} = \\ 0,9 \% (900 \mu\text{L}) & & \end{array}$$

$$u_{rel}^{pr\ddot{a}-4^2} = u_{rel}^m{}^2 + u_{rel}^w{}^2 + u_{rel}^{va1^2} + u_{rel}^{vs1^2} + u_{rel}^{va2^2} + u_{rel}^{vs2^2}$$

$$u_{rel}^{pr\ddot{a}-4^2} = 6,5 \%^2$$

$$u_{rel}^{pr\ddot{a}-5^2} = u_{rel}^m{}^2 + u_{rel}^w{}^2 + u_{rel}^{va1^2} + u_{rel}^{vs1^2} + u_{rel}^{va2^2} + u_{rel}^{vs2^2} + u_{rel}^{va3^2} + u_{rel}^{vs3^2}$$

$$u_{rel}^{pr\ddot{a}-5^2} = 8,3 \%^2$$

B. Herstellung der Testpunkte:

Zur Bestimmung der Unterschiede in den Durchmessern bei der Herstellung von Testpunkten sind von 20 Proben die Durchmesser bestimmt worden. Alle Proben wurden bei einer Temperatur von 110°C und einer Erwärmungszeit von 3 min hergestellt. Es sind fünf verschiedene Größen von 2 mm bis 4 mm Durchmesser mit je vier Proben vermessen worden. Es wurde die relative Standardabweichung für jede Größe bestimmt und von diesen fünf Werten der Mittelwert gebildet.

$$u_{rel}^{zone^2} = (4,2 \%)^2 = 17,6 \%^2$$

C. Auftragung der Nanopartikelsuspension und Analyt-Lösung:

Die Auftragung der Nanopartikelsuspension ($u_{rel}^{NP^2}$) und Analyt-Lösung ($u_{rel}^{AN^2}$) auf den Testpunkten erfolgt mit einer Pipette (Eppendorf Research plus verstellbar $0,1 \mu\text{L} - 2,5 \mu\text{L} \pm 0,065 \mu\text{L}$). Es werden jeweils $0,5 \mu\text{L}$ aufgetragen.

$$u_{rel}^{NP^2} = (13,0 \%)^2 = 169,0 \%^2$$

$$u_{rel}^{AN^2} = (13,0 \%)^2 = 169,0 \%^2$$

D. Signalstabilität des Messsystems:

Die Reproduzierbarkeit des Raman-Messsignals mit dem gegebenen Messaufbau wurde über die Messung von einem Siliziumwafer über die 14 Messtage von AD in Tabelle 12 bestimmt. Es wurde die RSD für die Fläche der Bande bei 520 cm^{-1} bestimmt.

$$u_{rel}^{SI\ 2} = (6,3\ \%)^2 = 39,7\ \%^2$$

Aus den einzelnen quadratischen RU ergeben sich jeweils für die beiden Konzentrationen ($10^{-4}\text{ M} = u_{rel}^{signal-4}$ und $10^{-5}\text{ M} = u_{rel}^{signal-5}$) durch Summation die folgenden Werte für die gesamte RU.

$$u_{rel}^{signal} = \sqrt{u_{rel}^{prä^2} + u_{rel}^{Zone^2} + u_{rel}^{NP^2} + u_{rel}^{AN^2} + u_{rel}^{SI\ 2}}$$

$$u_{rel}^{signal} = \sqrt{6.5\ \%^2\ (or\ 8.3\ \%^2) + 17.6\ \%^2 + 169.0\ \%^2 + 169.0\ \%^2 + 39,7\ \%^2}$$

$$u_{rel}^{signal-4} = 20\ \%$$

$$u_{rel}^{signal-5} = 20\ \%$$

Die Werte für beide Konzentrationen liegen bei einer relativen Unsicherheit von 20 % und stimmen damit gut mit der bestimmten mittleren RSD von 16 % in Tabelle 12 über ein. Dies bedeutet, dass unter den gesetzten Bedingungen alle relevanten normalen Fehlerquellen mit einbezogen sind. Die einzelnen Beiträge zeigen ganz deutlich zwei Punkte, die die größten Beiträge zu den relativen Unsicherheiten liefern. Diese sind das Auftropfen der Nanopartikelsuspension und Analyt-Lösung auf die Testpunkte. Diese beiden Punkte machen ca. 90 % der gesamten relativen Unsicherheit der Messung aus. Damit ist die Auftragung bei ansonsten konstanten Bedingungen der entscheidende Faktor um eine geringere RSD bei den Messungen zu bekommen.

Damit kann hier festgehalten werden, dass über einen gewissen Zeitraum stabile Messungen mit einer Fehlertoleranz von ca. 20 % möglich sind, aber nur wenn konstante Präparationsbedingungen vorausgesetzt werden. Über längere Zeiträume und sich ändernde Randbedingungen wie z.B. Nanopartikelansätze oder relative Luftfeuchtigkeit müssen die Signalflächen neu kalibriert werden.

4.3 Konzentrationsbestimmung

In den bisherigen Betrachtungen wurden die Faktoren untersucht, die Einfluss auf das SERS-Signal einer Probe haben. Hier soll nun die Abhängigkeit des Signals von der Analyt-Konzentration bei konstantem Auftragungsvolumen näher betrachtet werden, da darüber eine Quantifizierung von Analyten möglich wird. In Kapitel 4.1.3 sind diesbezüglich schon Experimente vorgestellt. Hier werden nun mehr Analyten mit größeren Datensätzen analysiert.

4.3.1 Messung der SERS-Intensitäts-Konzentrationskurven mehrerer Analyten

Alle in diesem Kapitel beschriebenen Konzentrationskurven wurden auf Testpunkten auf Papier, am Labormessaufbau und in einem Konzentrationsbereich von ca. 10^{-3} M bis 10^{-8} M gemessen. Die Konzentrationen entsprechen einem Stoffmengenbereich von ca. $5 \cdot 10^{-10}$ mol bis $5 \cdot 10^{-15}$ mol bei einem Probevolumen von 0,5 μ L. Die in den Abbildung 53 bis Abbildung 57 und Abbildung 59 gezeigten Daten sind jeweils mit dem LabVIEW-Analyseprogramm ausgewertet worden, in dem das Langmuir-SERS-Modell als Fit-Modell genutzt wurde. Der maximale Fehler zur Bestimmung der Datenpunkte, welche für den Fit genutzt wurden, wurde auf 20 % eingestellt. Dieser Wert ist von den Messungen zur Reproduzierbarkeit und der Berechnung der RU im vorhergehenden Kapitel abgeleitet. Alle Datenpunkte, die einen höheren Fehler zur Fit-Funktion aufweisen, wurden nicht für den Fit verwendet und als Quadrate ohne Füllfarbe dargestellt. Die ausgefüllten Quadrate sind die Datenpunkte, die für die Bestimmung der Fitfunktion (blaue Line) genutzt wurden. Die Parameter der Fitfunktionen der einzelnen Verbindungen und SERS-Banden sind in der Tabelle 13 und Tabelle 14 angegeben. Die Datenpunkte repräsentieren die Mittelwerte über die Messung von vier oder sechs unabhängigen Proben pro Konzentration. Die Fehlerbalken der Datenpunkte sind die größten gemessenen Abweichungen zu den jeweiligen Datenpunkten.

Die in Abbildung 53 für AD gezeigte Konzentrations-Signal-Kurve zeigt einen sigmoidalen Kurvenverlauf. Alle Datenpunkte im Konzentrationsbereich von $1 \cdot 10^{-3}$ M bis $5 \cdot 10^{-6}$ M wurden für die Fitfunktion genutzt. Erst bei geringeren Konzentrationen als $5 \cdot 10^{-6}$ M weichen die meisten Datenpunkte stärker von der Fitfunktion ab. Weiter ist festzuhalten, dass bei den Konzentrationen $1 \cdot 10^{-3}$ M und $2,44 \cdot 10^{-3}$ M ein erheblicher Signalabfall zu beobachten ist. Der Grund für den Abfall wurde nicht weiter untersucht, da dieser Konzentrationsbereich schon sehr hoch für SERS Messung ist und in diesem Konzentrationsbereich auch andere Methoden zur Anwendung kommen könnten. Daher wurden diese Werte vor der Bestimmung der Fit-

funktion aus dem Datensatz entfernt, da ein Signalabfall zu höheren Konzentrationen nicht zum Modell passt und den Fit beeinflusst hätte. Aus der berechneten Fitfunktion lässt sich ein Messbereich für AD von $2 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ bis $9 \cdot 10^{-8} \text{ M}$ bestimmen (Tabelle 13). Werden die berechneten Konzentrationsgrenzen mit den Messdaten verglichen, so zeigt sich eine gute Übereinstimmung mit dem Unterschied, dass der real messbare Konzentrationsbereich etwas kleiner ist. Die untere Grenze wird experimentell nicht erreicht, da nur bis zu einer Konzentration von $2 \cdot 10^{-7} \text{ M}$ ($n = 1 \cdot 10^{-13} \text{ mol}$) ein Signal des Analyten zugeordnet werden konnte und ab einer Konzentration von $1 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ ($n = 5 \cdot 10^{-10} \text{ mol}$) ein Konzentrationsabfall beobachtet wurde.

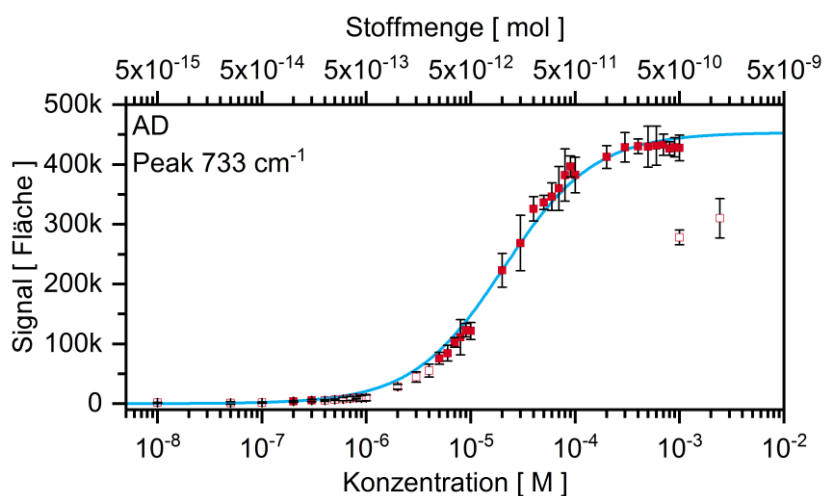


Abbildung 53 Messung der Konzentrationskurve von AD. Auftragung der AD-Konzentration gegen das SERS-Signal (Fläche) der Ringatemschwingung von AD bei 733 cm^{-1} . Bestimmt wurde die Fläche der SERS-Bande im Bereich von 700 cm^{-1} bis 780 cm^{-1} (LabVIEW-Analyseprogramm). Jeder Messpunkt ist der Mittelwert von sechs Einzelmessungen und der angegebene Fehler ist die maximale Abweichung zum Mittelwert. Die blaue Linie ist die angepasste Fit-Kurve. Ausgefüllte Messpunkte sind für den Fit verwendet worden und die ungefüllten nicht. Messung von Testpunkten am LMA (DZ = 60 s; GT = 1800 L mm^{-1}) und präpariert nach der Standardmethode (AgNP-3).

Im Folgenden ist dieselbe Auswertung für vier weitere Analyten durchgeführt worden, die alle mindestens einen charakteristischen Unterschied zum AD-Molekül aufweisen. So ist Ru(bipy)_3 positiv geladen, SRB negativ geladen, 4-NTP neutral aber mit einer Thiolgruppe und 4-MBS negativ mit einer Thiolgruppe. Damit soll überprüft werden, welchen Einfluss

verschiedene Moleküleigenschaften auf die Konzentrationskurven haben und ob das Langmuir-SERS-Modell allgemein für die Konzentrationsbestimmung genutzt werden kann.

Bei $\text{Ru}(\text{bipy})_3$ zeigt sich ebenso wie bei AD eine gute Übereinstimmung der Messdaten mit dem Fit-Modell (Abbildung 54). Die Datenpunkte, die nicht für den Fit genutzt wurden, beginnen bei $\text{Ru}(\text{bipy})_3$ erst bei $2 \cdot 10^{-6} \text{ M}$, für alle drei ausgewerteten SERS-Banden. Und anders als bei AD kann bei zwei von drei Banden des $\text{Ru}(\text{bipy})_3$ bis zu den berechneten LOD_{\min} Grenzen gemessen werden und zwar bei 1316 cm^{-1} (LOD_{\min} : $c = 2 \cdot 10^{-7} \text{ M}$) und 1487 cm^{-1} (LOD_{\min} : $c = 7 \cdot 10^{-8} \text{ M}$; Tabelle 13). So können alle drei Banden bis zu einer Konzentration von $5 \cdot 10^{-8} \text{ M}$ ($n = 2,5 \cdot 10^{-14} \text{ mol}$) interpretiert werden.

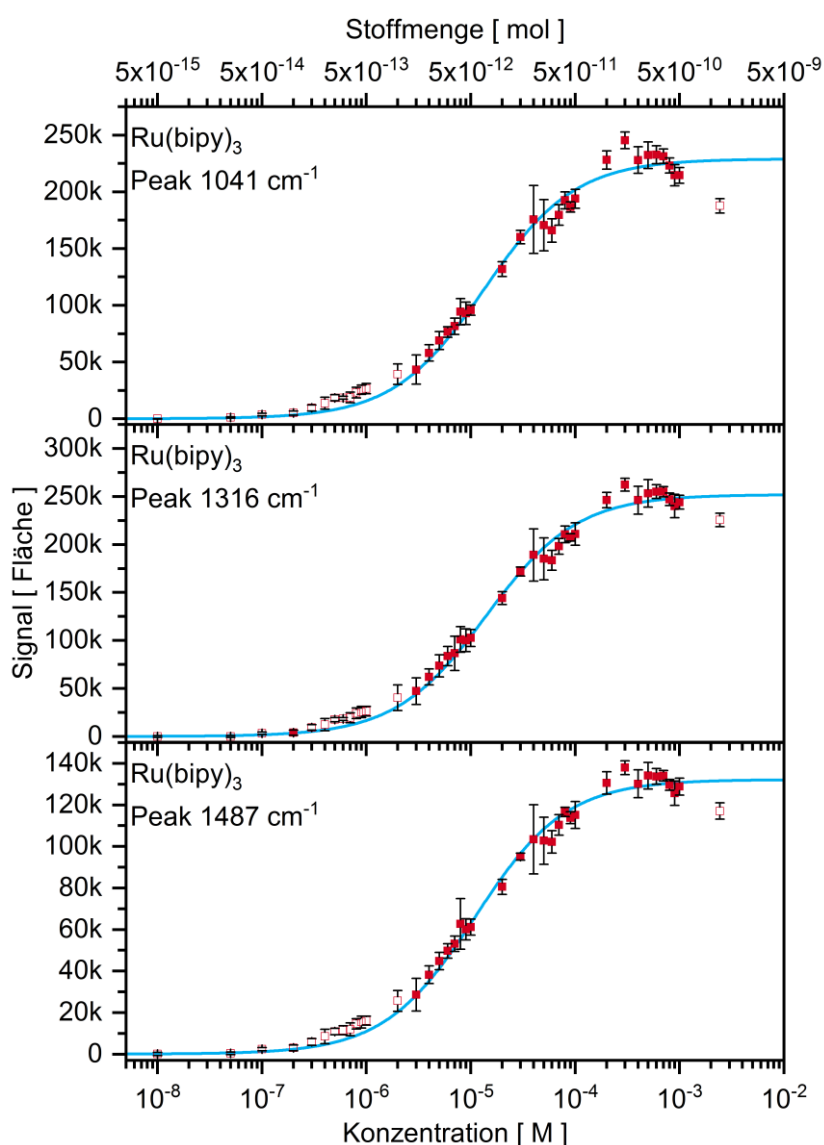


Abbildung 54 Messung der Konzentrationskurven von $\text{Ru}(\text{bipy})_3$. Auftragung der $\text{Ru}(\text{bipy})_3$ -Konzentration gegen das SERS-Signal (Fläche) der Banden bei

1041 cm^{-1} , 1316 cm^{-1} und 1487 cm^{-1} . Bestimmt wurden die Flächen der SERS-Banden in den Bereichen von 1029 cm^{-1} bis 1054 cm^{-1} , 1289 cm^{-1} bis 1340 cm^{-1} und 1469 cm^{-1} bis 1504 cm^{-1} (LabVIEW-Analyseprogramm). Jeder Messpunkt ist der Mittelwert von sechs Einzelmessungen und der angegebene Fehler ist die maximale Abweichung zum Mittelwert. Die blaue Linie ist die angepasste Fit-Kurve. Ausgefüllte Messpunkte sind für den Fit verwendet worden und die ungefüllten nicht. Messung von Testpunkten am LMA (DZ = 60 s; GT = 1800 L mm^{-1}) und präpariert nach der Standardmethode (AgNP-3).

Die Auswertung der SRB-Messungen ist etwas schwieriger, da hier unterschiedliche Detektionszeiten aufgrund der starken Fluoreszenz von SRB verwendet wurden. Daher wurden zuerst alle Spektren in das LabVIEW-Analyseprogramm eingelesen und im Anschluss wurden mit Excel die Intensitäten der Spektren auf eine Detektionszeit von 60 s extrapoliert. Die so bearbeitete Spektren-Datei wurde dann wieder in das LabVIEW-Analyseprogramm eingelesen und die Analyse konnte vorgenommen werden. Wie auch schon bei den vorher beschriebenen Messungen zur Reproduzierbarkeit zeigt SRB wesentlich größere Fehler (Abbildung 55) im Vergleich zu AD oder $\text{Ru}(\text{bipy})_3$. Dies hat Einfluss auf die für die Fit-Kurve genutzten Datenpunkte. So zeigen beide ausgewerteten SERS-Banden des SRB im Bereich um $1 \cdot 10^{-5}$ M Datenpunkte, die eine höhere Abweichung als 20 % aufweisen und nicht für die Fitfunktion genutzt wurden. Dafür wurden bei niedrigeren Konzentrationen noch einige weitere Datenpunkte (drei bis fünf) für den Fit genutzt. Bei AD oder $\text{Ru}(\text{bipy})_3$ wurden hingegen keine oder maximal zwei Datenpunkte nach den zusammenhängenden Datenpunkten noch für den Fit genutzt. Ebenso wie bei AD konnten für SRB die berechneten LOD_{\min} Grenzen (Tabelle 13) experimentell nicht erreicht werden, da auch hier die Signale nur bei höheren Konzentrationen vom Rauschen zu unterscheiden waren.

Bei 4-NTP ist die Detektionszeit von 60 s auf 20 s reduziert worden, da 4-NTP ein sehr starkes SERS-Signal liefert. Bei den Konzentrationen $1 \cdot 10^{-3}$ M bis $4 \cdot 10^{-4}$ M ist genau wie bei AD und $\text{Ru}(\text{bipy})_3$ ein Signalabfall zu beobachten, daher wurden diese vor dem Fit entfernt. Der Bereich für die zusammenhängenden genutzten Datenpunkte ist bei 4-NTP von $2 \cdot 10^{-4}$ M bis $2 \cdot 10^{-5}$ M. Die Auswertung der Fitkurven der Messdaten ergibt dasselbe Verhalten wie bei AD und SRB, dass die LOD_{\min} nicht mit den Messungen erreicht werden konnten, da die niedrigste Konzentration, die noch als SERS-Bande interpretiert werden konnte, bei $2 \cdot 10^{-7}$ M bei der Bande um 1344 cm^{-1} liegt (Tabelle 13) und somit um eine Größenordnung größer als das

LOD_{min} dieser Bande ist. Die Banden um 1344 cm⁻¹ und 1572 cm⁻¹ weisen bei 5 · 10⁻⁸ M ein Differenzsignal zum Blankspektrum auf, dieses Signal kann aber nicht eindeutig als Bande identifiziert werden.

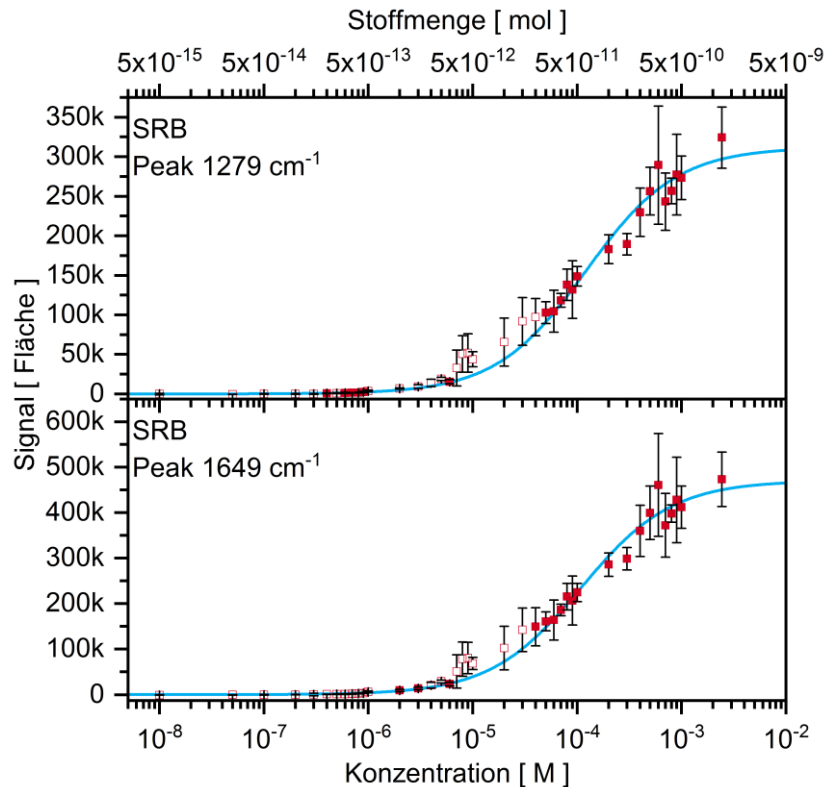


Abbildung 55 Messung der Konzentrationskurven von SRB. Auftragung der SRB-Konzentration gegen das SERS-Signal (Fläche) der Banden bei 1279 cm⁻¹ und 1649 cm⁻¹. Bestimmt wurde die Fläche der SERS-Banden in den Bereichen von 1260 cm⁻¹ bis 1298 cm⁻¹ und 1612 cm⁻¹ bis 1668 cm⁻¹ (LabVIEW-Analyseprogramm). Jeder Messpunkt ist der Mittelwert von sechs Einzelmessungen und der angegebene Fehler ist die maximale Abweichung zum Mittelwert. Die blaue Linie ist die angepasste Fit-Kurve. Ausgefüllte Messpunkte sind für den Fit verwendet worden und die ungefüllten nicht. Messung von Testpunkten am LMA (DZ = 5 s bis 60 s; GT = 1800 L mm⁻¹) und präpariert nach der Standardmethode (AgNP-3).

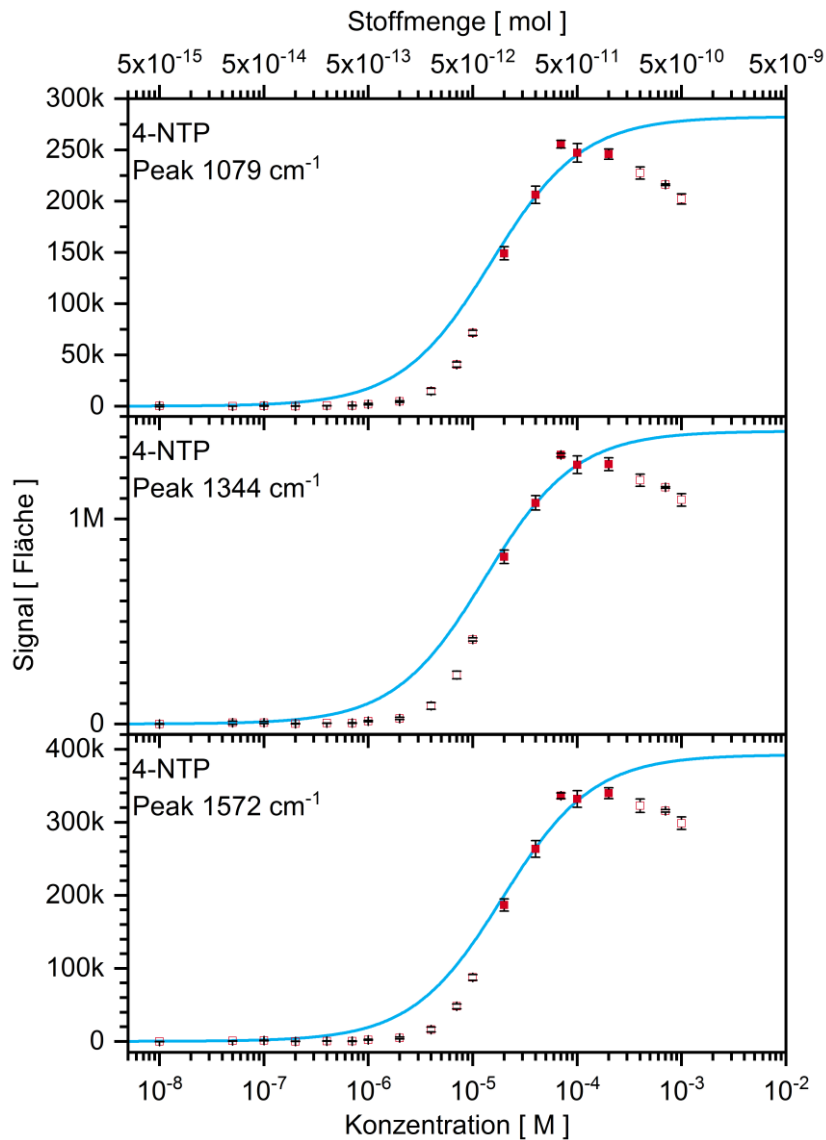


Abbildung 56 Messung der Konzentrationskurven von 4-NTP. Auftragung der 4-NTP-Konzentration gegen das SERS-Signal (Fläche) der Banden bei 1079 cm^{-1} , 1344 cm^{-1} und 1572 cm^{-1} . Bestimmt wurde die Fläche der SERS-Banden in den Bereichen von 1061 cm^{-1} bis 1096 cm^{-1} , 1260 cm^{-1} bis 1410 cm^{-1} und 1540 cm^{-1} bis 1600 cm^{-1} (LabVIEW-Analyseprogramm). Jeder Messpunkt ist der Mittelwert von vier Einzelmessungen und der angegebene Fehler ist die maximale Abweichung zum Mittelwert. Die blaue Linie ist die angepasste Fit-Kurve. Ausgefüllte Messpunkte sind für den Fit verwendet worden und die ungefüllten nicht. Messung von Testpunkten am LMA (DZ = 30 s bis 60 s; GT = 1800 L mm^{-1}) und präpariert nach der Standardmethode (AgNP-3).

4-MBS und 4-NTP zeigen aufgrund ihrer ähnlichen chemischen Struktur näherungsweise für die Banden 1079 cm^{-1} und 1585 cm^{-1} die gleiche maximale Signalintensität bei $1\cdot 10^{-4}\text{ M}$ (Signal auf 60 s DZ hochgerechnet) und sie zeigen beide eine Signalabnahme bei höheren Konzentrationen ab einer Konzentration von etwa $1\cdot 10^{-4}\text{ M}$. Dieses Verhalten ist ebenso bei AD und Ru(bipy)_3 in nicht ganz so starker Form zu beobachten. Ebenso wie bei 4-NTP wurde auch bei 4-MBS der Fit nur durch wenige Punkte beschrieben, dennoch entsprechen die Fitfunktionen gut dem Verlauf der Messdaten. Die aus der Fitfunktion bestimmten LOD_{\min} -Werte wurden bei der SERS-Bande 1075 cm^{-1} experimentell nicht erreicht, jedoch bei der Bande bei 1585 cm^{-1} .

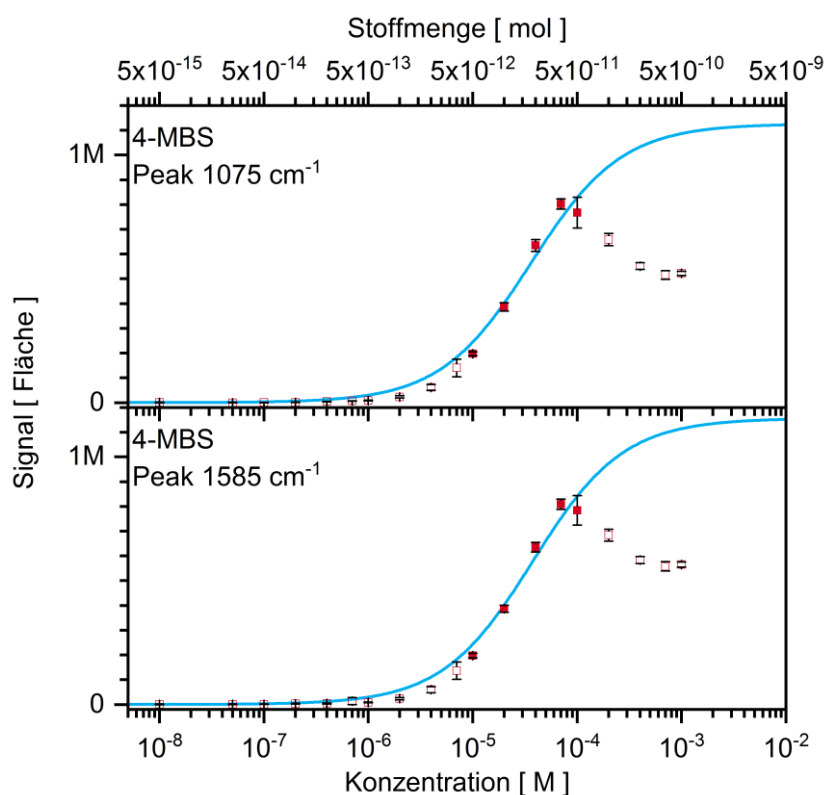


Abbildung 57 Messung der Konzentrationskurven von 4-MBS. Auftragung der 4-MBS-Konzentration gegen das SERS-Signal (Fläche) der Banden bei 1075 cm^{-1} und 1585 cm^{-1} . Bestimmt wurde die Fläche der SERS-Banden in den Bereichen von 1036 cm^{-1} bis 1115 cm^{-1} und 1540 cm^{-1} bis 1628 cm^{-1} (LabVIEW-Analyseprogramm). Jeder Messpunkt ist der Mittelwert von vier Einzelmessungen und der angegebene Fehler ist die maximale Abweichung zum Mittelwert. Die blaue Linie ist die angepasste Fit-Kurve. Ausgefüllte Messpunkte sind für den Fit verwendet worden und die ungefüllten nicht. Mes-

sung von Testpunkten am LMA ($DZ = 60 \text{ s}$; $GT = 1800 \text{ L mm}^{-1}$) und präpariert nach der Standardmethode (AgNP-3).

In der Tabelle 13 sind die Werte von allen fünf Analyten aus den Messungen und den Langmuir-SERS-Fits aufgeführt. Wie an den gemittelten Adsorptionskonstanten zu sehen ist, zeigt Ru(bipy)_3 die größte Affinität zu den hier verwendeten Nanopartikeln mit einer Adsorptionskonstante von um die 80k M^{-1} . Dies kann auf die positive Ladung des Analyten und die negative Ladung des Nanopartikels zurückgeführt werden und die damit verbundene elektrostatische Anziehung. Werden die beiden neutralen Analyten AD und 4-NTP betrachtet, so hat AD eine K_L um die 50k M^{-1} und 4-NTP eine K_L um die 65 M^{-1} . Da sie keine elektrostatische Anziehung zeigen aber eine hohe Affinität der Amino- und Thiol-Gruppen aufweisen, kommen diese hohen K_L zustande. Der Vergleich der Adsorptionskonstanten der beiden Analyten zeigt auch, dass eine Thiol-Gruppe eine stärkere Interaktion mit den Silbernanopartikeln aufweist als die Amino-Gruppe. An vierter Stelle im Vergleich der Analyten kommt 4-MBS, welches eine gemittelte Adsorptionskonstante von um die 30k M^{-1} hat. Damit ist K_L von 4-MBS um rund 35k M^{-1} kleiner als die K_L von 4-NTP und der einzige Unterschied in den beiden Molekülen ist die funktionelle Gruppe an der Position 4 des Benzolrings (Abbildung 66). Bei 4-NTP handelt es sich um eine neutrale Nitrogruppe und bei 4-MBS um eine negativ geladene Carboxylgruppe. Durch diesen Vergleich wird der starke Einfluss der Ladung des Analytmoleküls auf die Nanopartikelaffinität deutlich. Bei einem Analyten, der über negativ geladene und positiv geladene Gruppen verfügt, aber als Nettoladung negativ geladen ist, liegt die Adsorptionskonstante noch einmal drastisch niedriger. Dies ist der Fall bei SRB, hier wird eine mittlere K_L von nur um die 10k M^{-1} beobachtet. Damit kann davon ausgegangen werden, dass die geringe K_L auf die elektrostatische Abstoßung zurückzuführen ist, aber durch die Amino-Gruppen dennoch eine gewisse Affinität besteht.

Hingegen zeigen die maximalen Signalflächen (letzte Spalte Tabelle 13), dass die Signalfläche keinen Rückschluss auf die Affinität des Analyten zu den Nanopartikeln zulässt, da Ru(bipy)_3 die geringsten Signalflächen von ca. 140k bis 260k aufweist, aber die größte Adsorptionskonstante. Daher kann davon ausgegangen werden, dass die absoluten Signalflächen bei einer Art von Nanomaterial vor allem durch die Moleküleigenschaften des Analyten bestimmt werden. Somit zeigen Moleküle ein hohes SERS-Signal, wenn sie eine hohe Affinität zum Nanomaterial aufweisen und selbst einen großen Streuquerschnitt im betrachteten molekularen Zustand, z.B. Ladungszustand, zeigen. Dies ist z.B. der Fall bei 4-NTP, welches eine

hohe Adsorptionskonstante K_L und einen großen Streuquerschnitt aufweist und daher auch hier das stärkste SERS-Signal liefert.

Obwohl sich die Analyten in ihren Adsorptionskonstanten und ihren Signalflächen recht stark unterscheiden, werden bei allen fünf Analyten die minimal interpretierbaren Peaks bei einer Konzentration im Bereich von $5 \cdot 10^{-8}$ M bis $5 \cdot 10^{-7}$ M beobachtet. Ebenso zeigen alle fünf Analyten im Bereich von $1 \cdot 10^{-4}$ M bis $2 \cdot 10^{-3}$ M die maximalen Signale und einen mehr oder weniger starken Signalabfall bei höheren Konzentrationen. Einzig bei SRB ist ein weiterer Anstieg bis zur höchsten gemessenen Konzentration zu beobachten. Daher kann davon ausgegangen werden, dass das der Stoffmengenbereich ist, der unter den hier festgelegten Bedingungen bei Analyten mit ausreichender Signalintensität gemessen werden kann.

Tabelle 13 Messdaten und Fit-Daten von AD, Ru(bipy)₃, SRB, 4-NTP und 4-MBS aus Abbildung 53 bis Abbildung 57. Die Fit-Daten sind die Daten des Langmuir-SERS-Modells K_L , I_{\max} , S_{blank} , $I_{\max,s}$ und die Daten der LODs (LOD_{\min} und LOD_{\max}), die daraus berechnet wurden. Die Fit-Daten K_L und I_{\max} stammen aus dem LabVIEW-Analysepro. und die anderen vier Werte sind mit Origin und Excel berechnet worden. Die Messdaten sind Peak_{\min} (die Konzentration bis zu der ein Peak interpretiert werden kann) und Signal_{\max} (die maximale Fläche der jeweiligen SERS-Bande des jeweiligen Analyten).

Analyt	K_L [M ⁻¹]	I_{\max} [Fläche]	S_{blank} [Fläche]	$I_{\max,s}$ [Fläche]	LOD_{\min} [M]	LOD_{\max} [M]	Peak_{\min} [M]	Signal_{\max} [Fläche 60s ⁻¹]
AD (733 cm ⁻¹)	48588	453336	668	5302	9 10⁻⁸	2 10⁻³	2 10⁻⁷	433147
Ru(bipy) ₃ (1041 cm ⁻¹)	74132	228984	169	3393	3 10 ⁻⁸	9 10 ⁻⁴	5 10 ⁻⁸	245453
Ru(bipy) ₃ (1316 cm ⁻¹)	71018	251932	978	3039	2 10 ⁻⁷	1 10 ⁻³	5 10 ⁻⁸	262271
Ru(bipy) ₃ (1487 cm ⁻¹)	90946	132182	298	1436	7 10 ⁻⁸	1 10 ⁻³	5 10 ⁻⁸	137894
Ru(bipy) ₃ (Mittelwert)	78699	---	---	---	1 10⁻⁷	1 10⁻³	5 10⁻⁸	---
SRB (1279 cm ⁻¹)	8217	311926	283	8544	3 10 ⁻⁷	4 10 ⁻³	4 10 ⁻⁷	324328
SRB (1649 cm ⁻¹)	9167	470398	178	13159	1 10 ⁻⁷	4 10 ⁻³	4 10 ⁻⁷	473111
SRB (Mittelwert)	8692	---	---	---	2 10⁻⁷	4 10⁻³	4 10⁻⁷	---
4-NTP (1079 cm ⁻¹)	66098	282378	124	19472	2 10 ⁻⁸	2 10 ⁻⁴	4 10 ⁻⁷	767028
4-NTP (1344 cm ⁻¹)	76171	1428200	661	83642	2 10 ⁻⁸	2 10 ⁻⁴	2 10 ⁻⁷	3936000
4-NTP (1572 cm ⁻¹)	52066	392359	260	24936	4 10 ⁻⁸	3 10 ⁻⁴	2 10 ⁻⁷	1019406
4-NTP (Mittelwert)	64778	---	---	---	3 10⁻⁸	2 10⁻⁴	3 10⁻⁷	---
4-MBS (1075 cm ⁻¹)	27794	1126080	626	151022	6 10 ⁻⁸	2 10 ⁻⁴	1 10 ⁻⁷	801821
4-MBS (1585 cm ⁻¹)	26673	1156520	1398	148375	1 10 ⁻⁷	3 10 ⁻⁴	4 10 ⁻⁷	808945
4-MBS (Mittelwert)	27234	---	---	---	8 10⁻⁸	3 10⁻⁴	3 10⁻⁷	---

In Abbildung 58 sind die relativen mittleren Abweichungen von den Fitfunktionen (normiert auf das Signal der Fitfunktion) aller fünf Analyten über alle in Abbildung 53 bis Abbildung 57 gezeigten Messungen dargestellt. Dabei ist zu erkennen, dass im Bereich von ca. 10^{-3} M bis ca. $5 \cdot 10^{-6}$ M die meisten Datenpunkte kleinere Abweichungen als $\pm 20\%$ aufweisen und damit der Bereich ist, der die höchste Übereinstimmung mit den Fitfunktionen zeigt. Die sehr hohen Abweichungen bei $1 \cdot 10^{-8}$ M sind darauf zurück zu führen, dass bei dieser Konzentration eigentlich kein Analyt-Signal mehr detektiert wurde. Da aber stärkere Abweichungen unterhalb von $5 \cdot 10^{-6}$ M auftreten, werden im Kapitel 4.3.3 noch weitere Modelle zur Auswertung der Daten getestet, um zu prüfen ob weitere Parameter zum Langmuir-SERS-Modell berücksichtigt werden müssten.

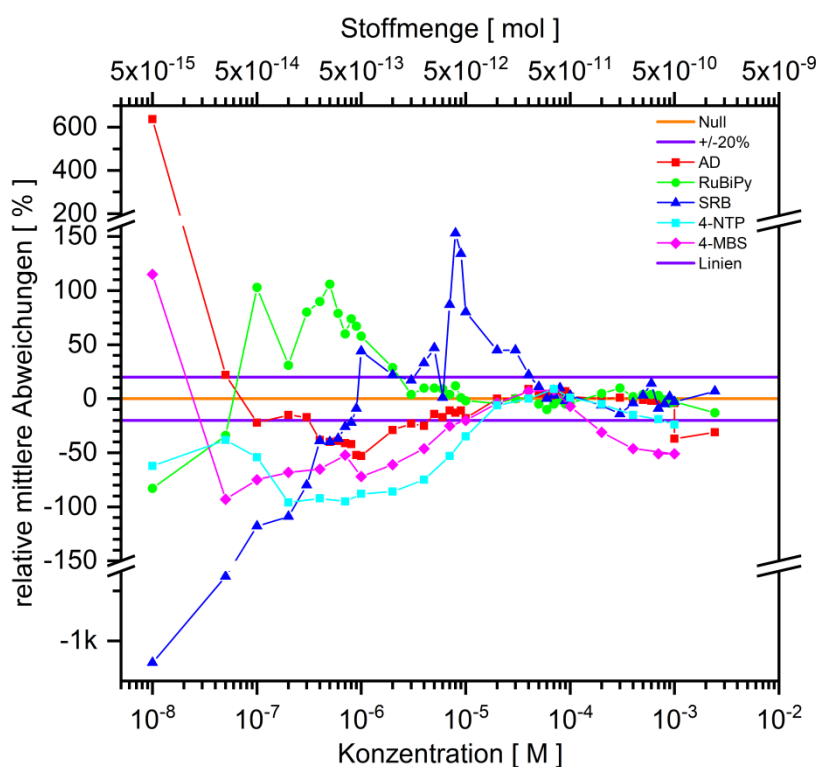


Abbildung 58 Auftragung der relativen mittleren Abweichungen von der Fitfunktion der Messungen von Abbildung 53 bis Abbildung 57 normiert auf das Signal der Fitfunktion gegen die Analyt-Konzentration. Es sind AD, Ru(bipy)₃, SRB, 4-NTP und 4-MBS aufgeführt. Die orange Linie stellt den Null-Wert dar und die lila Linien stellen den maximal genutzten Fehler im LabVIEW-Analyseprogramm dar.

In einem weiteren Schritt wurden zwei Konzentrationsreihen auf den positiv beschichteten Nanopartikeln gemessen. Als Analyt sind dabei AD und SRB verwendet worden, um zu untersuchen, wie sich die Adsorptionskonstanten dieser Analyten bei positiver Polarisierung der NP verändern. In Abbildung 59 sind die gemessenen Konzentrationskurven gezeigt. Dabei fällt auf, dass wesentlich weniger Datenpunkte dem Fit entsprechen als bei denselben Analyten auf negativen NP. Daher wurden zusätzlich noch die Langmuir-SERS-Fits über alle Datenpunkte in die Auswertung aufgenommen. Die Werte der Langmuir-SERS-Fits unterscheiden sich beträchtlich von den Daten, die über die Fitfunktionen aller Datenpunkte erhalten werden, liegen aber in derselben Größenordnung. So ergibt der Fit aller Datenpunkte von AD eine K_L von 4609 M^{-1} und der Fit ausgewählter Punkte ein K_L von 2094 M^{-1} (Tabelle 14). Für SRB wurde für alle Datenpunkte ein mittlerer K_L von 968 M^{-1} und ein mittlerer K_L von 3576 M^{-1} bei Auswahl der Datenpunkte erhalten (Tabelle 14). Der Vergleich dieser Werte mit denen aus Tabelle 13 ergibt sowohl für AD als auch für SRB eine Abnahme der Affinität der Analyten zu den Nanopartikeln. Für AD verringert sich die Affinität um den Faktor 23 (11 bei allen Datenpunkten) und für SRB um den Faktor 2 (9 bei allen Datenpunkten). Da beide Analyten eine Abnahme der Affinität zeigen, bewirkt die Beschichtung mit positivem Polymer eine Hinderung der Adsorption der Analyten direkt an die Nanopartikel. Aus diesem Grund sinkt die Signalfäche von AD bei dieser Messreihe. Anders ist es bei SRB, obwohl eine geringere Adsorptionskonstante beobachtet wird, steigt die Signalfäche um den Faktor 8 oder 13 an. Das lässt sich wahrscheinlich auf die Veränderung der Umgebungsbedingungen zurückführen, da das Polymer auf der NP-Oberfläche bei der Adsorption eine saure Umgebung erzeugt und so das SERS-Signal des SRB verstärkt. Die pH-Wert-Abhängigkeit von SERS-Messungen von SRB ist aus der Literatur bekannt.[101] Messungen auf μ PADs (Kapitel 4.5.1) zeigen, dass SRB wahrscheinlich höhere Adsorptionskonstanten auf positiven Nanopartikeln aufweist als die hier berechneten Konstanten. Der Grund für die zu klein berechneten Adsorptionskonstanten (K_L) von SRB kann in der Annahme liegen, dass alle aufgetragenen Analyt-Moleküle zum SERS-Signal beitragen. Sind nun aber Analyt-Moleküle auf der Polymerschicht adsorbiert und zu weit vom NP entfernt, so dass sie kein SERS-Signal geben, dann wären die angenommenen Analyt-Konzentrationen zu hoch und damit die berechneten Adsorptionskonstanten (K_L) für SRB auf positiven Nanopartikeln zu klein.

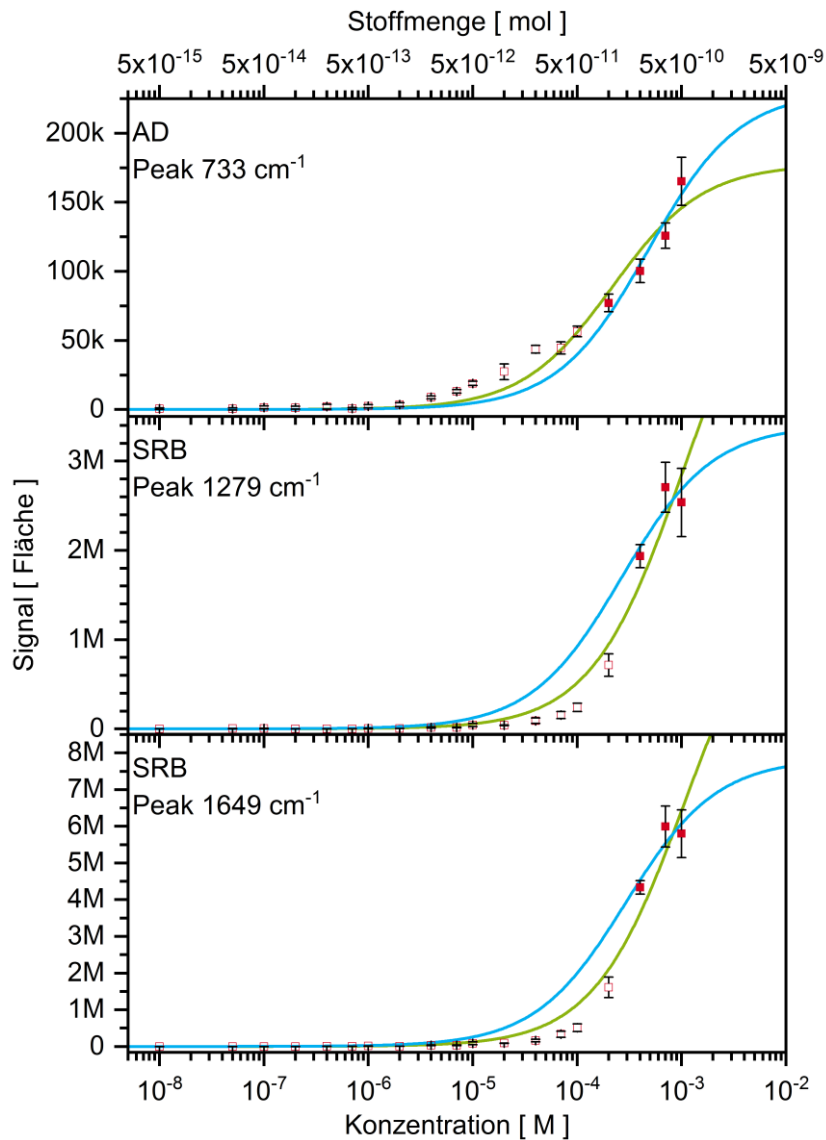


Abbildung 59 Messung der Konzentrationskurven von AD und SRB auf positiv geladenen Nanopartikeln. Aufgetragen sind die Konzentration von AD und SRB gegen das jeweilige SERS-Signal (Fläche) der Banden bei 733 cm^{-1} , 1279 cm^{-1} und 1649 cm^{-1} . Bestimmt wurde die Fläche der SERS-Banden in den Bereichen von 700 cm^{-1} bis 780 cm^{-1} , 1260 cm^{-1} bis 1298 cm^{-1} und 1612 cm^{-1} bis 1668 cm^{-1} (LabVIEW-Analyseprogramm). Jeder Messpunkt ist der Mittelwert von vier Einzelmessungen und der angegebene Fehler ist die maximale Abweichung zum Mittelwert. Die blaue Linie ist die angepasste Fit-Kurve. Ausgefüllte Messpunkte sind für den Fit verwendet worden und die ungefüllten nicht. Messung von Testpunkten am LMA (DZ = 2 bis 60 s; GT = 1800 L mm^{-1}) und präpariert nach der Standardmethode (AgNP-4). Die grüne Linie ist die angepasste Fit-Kurve über alle gemessenen Datenpunkte.

Tabelle 14 Messdaten und Fit-Daten von AD und SRB aus Abbildung 59. Die Fit-Daten sind die Daten des Langmuir-SERS-Modells K_L , I_{\max} , S_{blank} , $I_{\max,s}$ und die Daten der LODs (LOD_{\min} und LOD_{\max}), die daraus berechnet wurden. Die Fit-Daten K_L und I_{\max} stammen aus dem LabVIEW-Analyseprogramm und die anderen vier Werte sind mit Origin und Excel berechnet worden. Die Messdaten sind Peak_{\min} (die Konzentration bis zu der ein Peak interpretiert werden kann) und Signal_{\max} (die maximale Fläche der jeweiligen SERS-Bande des jeweiligen Analyten).

Analyt	$K_L [\text{M}^{-1}]$	I_{\max} [Fläche]	S_{blank} [Fläche]	$I_{\max, \text{sta-error}}$ [Fläche]	LOD_{\min} [M]	LOD_{\max} [M]	Peak_{\min} [M]	Signal_{\max} [Fläche 60s^{-1}]
AD ($734 \text{ cm}^{-1}/\text{AgNP}^+$)	2094	230603	535	45048	$3 \cdot 10^{-6}$	$2 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-7}$	165149
SRB ($1279 \text{ cm}^{-1}/\text{AgNP}^+$)	3732	3404080	472	970114	$1 \cdot 10^{-7}$	$7 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-7}$	2707450
SRB ($1649 \text{ cm}^{-1}/\text{AgNP}^+$)	3419	7848200	417	1910260	$5 \cdot 10^{-8}$	$9 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-7}$	5994150
SRB (Mittelwert/ AgNP^+)	3576	---	---	---	$8 \cdot 10^{-8}$	$8 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-7}$	---

Aus den bestimmten Adsorptionskonstanten aus Tabelle 13 und Tabelle 14 kann über die Gl. 34 die freigesetzte Adsorptionsenergie berechnet werden (Tabelle 15). Die Adsorptionsenergien der fünf Analyten auf den negativ geladenen Nanopartikeln liegen alle in einem Bereich von -22 kJ mol^{-1} bis -29 kJ mol^{-1} . Die Betrachtung von Literaturwerten für Thiophenol (pH = 6), [45] Pyridinderivaten [105] und Anilinderivaten [105] auf Gold-Substraten zeigt, dass die Adsorptionsenergien im Mittel in einem Bereich zwischen -20 kJ mol^{-1} bis -40 kJ mol^{-1} liegen. Somit liegen die hier bestimmten Adsorptionsenergien für negativ geladene Nanopartikel gut in diesem Bereich und sind ein weiterer Punkt, der die Auswertung der Messdaten mit dem Langmuir-SERS-Modell untermauert. Die beiden Analyten gemessen auf den positiv geladenen Nanopartikeln zeigen kleinere Adsorptionsenergien, die am unteren Ende des Literaturbereiches liegen von -19 kJ mol^{-1} bis -20 kJ mol^{-1} . Somit zeigen sowohl die negativ geladenen als auch die positiv geladenen Nanopartikel Adsorptionsenergien für die Analyten, die in einem realistischen Bereich liegen.

Tabelle 15 Adsorptionsenergien berechnet nach Gl. 34 aus den Adsorptionskonstanten der Tabelle 13 und Tabelle 14 bei einer Temperatur von $25,85 \text{ }^\circ\text{C}$ ($= 299 \text{ K}$).

Analyt	ΔG [kJ mol^{-1}]	Analyt	ΔG [kJ mol^{-1}]
AD (734 cm^{-1})	-26,93	4-NTP (1572 cm^{-1})	-27,00
Ru(bipy) ₃ (1041 cm^{-1})	-27,88	4-NTP (Mittelwert)	-27,51

Ru(bipy) ₃ (1316 cm ⁻¹)	-27,77	4-MBS (1075 cm ⁻¹)	-25,44
Ru(bipy) ₃ (1487 cm ⁻¹)	-28,39	4-MBS (1585 cm ⁻¹)	-25,34
Ru(bipy) ₃ (Mittelwert)	-28,01	4-MBS (Mittelwert)	-25,39
SRB (1279 cm ⁻¹)	-22,41	AD (734 cm ⁻¹ /AgNP ⁺)	-19,01
SRB (1649 cm ⁻¹)	-22,68	SRB (1279 cm ⁻¹ /AgNP ⁺)	-20,45
SRB (Mittelwert)	-22,55	SRB (1649 cm ⁻¹ /AgNP ⁺)	-20,23
4-NTP (1079 cm ⁻¹)	-27,59	SRB (Mittelwert/AgNP ⁺)	-20,34
4-NTP (1344 cm ⁻¹)	-27,94		

4.3.2 Langmuir-SERS-Modell

Die Daten im Kapitel 4.1.3 und im Kapitel 4.3.1 sind mit einer Langmuir-Isothermen ausgewertet worden. Das Langmuir-SERS-Modell zur Auswertung soll hier erläutert werden.

Ausgehend von den drei Annahmen, die für die Langmuir-Isotherme gelten (Kapitel 2.6.1) wird dieses Modell beschrieben. Die erste Annahme setzt definierte Adsorptionsplätze an einer Phasengrenze auf einem Adsorbens voraus, die alle äquivalent sind. Da in dieser Arbeit von sphärischen Nanopartikeln als Näherung ausgegangen wird, wird die Oberfläche dieser Nanopartikel als Phasengrenze aufgefasst. Dabei wird weiter angenommen, dass alle Nanopartikel die gleiche Größe haben und keine Kristallfehler aufweisen und somit auch äquivalente Adsorptionsplätze aufweisen.

Die zweite Annahme der Langmuir-Isotherme ist, dass jeder Adsorptionsplatz nur von einem Adsorbat besetzt werden kann und die maximale Belegung eine Monolage ist. Das bedeutet entweder, dass nur eine Monolage an Analyt auf dem Nanopartikel adsorbiert wird, oder dass nur die erste Monolage zum SERS-Signal beiträgt. Der erste Fall entspricht direkt der Langmuir-Isotherme. Der zweite Fall berücksichtigt, dass Polylagen gebildet werden können aber nur die erste Monolage einen signifikanten Beitrag zum SERS-Signal des Analyten liefert. Dieses lässt sich anhand der Abstandsabhängigkeit des SERS-Effektes erklären. Der elektromagnetische SERS-Effekt hat näherungsweise eine Abstandsabhängigkeit der SERS-Signalintensität von $I_{\text{SERS}} \approx r^{-12}$ (Gl. 25) für sphärische Nanopartikel. Damit würde sich für einen 10 nm großen Nanopartikel bei welchem die zweite Moleküllage bei einem Abstand von 2 nm zur Oberfläche des Nanopartikels hat, eine Signalintensität von nur ca. 11 % im Verhältnis zur ersten Schicht direkt auf der Nanopartikeloberfläche ergeben. Die Abstandsabhängigkeit des CM-Effektes ist, dass nur direkt an den Nanopartikel gebundene Moleküle durch ihn verstärkt werden. Ausgehend von der möglichen Verstärkung durch den CM-Effekt kann die zweite Moleküllage nur 1 % bis maximal 10 % des SERS-Signals der ersten Mono-

lage erzeugen. Wird nun der Fall betrachtet, dass beide Effekte bei der Verstärkung des Raman-Signals eines Analyten ihren Beitrag liefern, so ergibt sich für die zweite Moleküllage eine SERS-Signalintensität von maximal rund 1 % des SERS-Signals der ersten Monolage und kann damit vernachlässigt werden. Somit würde auch bei mehreren Moleküllagen nur die erste Moleküllage den signifikanten Intensitätsbeitrag zum SERS-Signal liefern.

Die dritte Annahme aus dem Langmuir-Modell ist, dass die adsorbierten Moleküle keinerlei Wechselwirkung untereinander zeigen und damit die Wahrscheinlichkeit, dass ein Adsorptionsplatz besetzt wird, unabhängig davon ist, ob die Nachbarplätze besetzt sind. Diese Annahme ist bei SERS-Messungen nur beschränkt erfüllt, da z.B. bei geladenen Molekülen eine starke Coulomb-Wechselwirkung beobachtet wird. Dies könnte auch ein Punkt sein, warum gewisse Abweichungen von den gefitteten Langmuir-Isothermen zu den Messdaten auftreten.

Die Annahmen aus dem Langmuir-Modell sind damit bei SERS-Messungen zum größten Teil erfüllt, weshalb sich die Messdaten der Analyten gut mit einer Langmuir-Isotherme anpassen lassen. Wie aus Gl. 31 aber ersichtlich ist, wird die genutzte Langmuir-Isotherme noch mit einem Proportionalitätsfaktor versehen. Dies entspricht dem SERS-Signal bei einer vollbelegten Monolage an Analyten auf dem Nanomaterial. Daher kommen zu den Annahmen für die Langmuir-Isotherme noch weitere Annahmen aus dem SERS-Effekt hinzu. Die Annahmen werden hier speziell auf die vorher gemachten Annahmen bezogen.

Die erste Annahme für den SERS-Effekt ist eine Näherung und entspricht nicht der Realität. Die sphärischen Nanopartikel haben alle die gleiche Größe und sind so weit voneinander entfernt, dass ihre EM-Effekte sich gegenseitig nicht beeinflussen und damit keine Hot-Spots gebildet werden. Somit umgibt jeden Nanopartikel dasselbe elektromagnetische Feld beim SERS-Effekt.

Die Moleküle, die an die Nanopartikel binden, werden in erster Näherung als Stäbchen aufgefasst, die entlang ihrer längsten Achse die normierte Polarisierbarkeit von 1 aufweisen sollen und orthogonal dazu die normierte Polarisierbarkeit 0 zeigen. Diese Moleküle sollen senkrecht bezogen auf ihre längste Achse zur Nanopartikeloberfläche adsorbiert sein (Abbildung 60 A). Dies entspricht der Auffassung, dass die meisten Moleküle über eine funktionelle Gruppe an den Nanopartikel gebunden sind und trägt dem Rechnung, dass die meisten Analyten eine anisotrope Polarisierbarkeit aufweisen. Die aus der Orientierung der Moleküle folgende Abschwächung des SERS-Signals wird als Mittelwert über alle Moleküle angenom-

men. Diese wird als Verhältnis (Gl. 47) zwischen am Nanopartikel gebundene Moleküle mit anisotroper Polarisierbarkeit (Gl. 48) und Moleküle mit isotroper Polarisierbarkeit (Kugelpolarisierbarkeit), die der bei 0° entspricht, beschrieben (Gl. 49). Das Verhältnis ergibt einen Korrelationsfaktor von $\bar{I}_{norm-ST} = 0,5$. Werden in einem nächsten Schritt die anisotropen Moleküle als isotrope Kugelmoleküle aufgefasst, ergibt sich deren Signalintensität aus \bar{I}_{KU} korrigiert um den Faktor $\bar{I}_{norm-ST}$. Das SERS-Signal dieser isotropen Kugelmoleküle ist dann aber immer noch abhängig von der relativen Position des Analyten auf dem Nanopartikel zum einfallenden Licht (Abbildung 60 B), wie in Kapitel 2.2.1 beschrieben (Gl. 21). Wird nun hier ebenfalls die Abschwächung als Verhältnis zwischen dem Verstärkungsfaktor bei 0° ($EF_{EM} = 16|\vec{g}_L|^2|\vec{g}_{LS}|^2$) und dem mittleren Verstärkungsfaktor ($EF_{EM} = 4|\vec{g}_L|^2|\vec{g}_{LS}|^2$) bestimmt, ergibt sich ein Wert von $\bar{I}_{norm-EF(EM)} = 0,25$. Die Kombination dieser beiden Effekte ergibt einen Korrelationsfaktor von $\bar{I}_{norm-ges} = 0,125$. Diese Berechnungen setzen aber ein genügend große Anzahl an Nanopartikeln und Analyten voraus, damit diese Mittelwerte als Verteilungswerte angenommen werden können. Daher ist es experimentell sinnvoll einen großen Laserpunkt zu verwenden, um auch bei niedrigen Konzentration eine große Anzahl an Nanopartikeln mit Analyten zu messen.

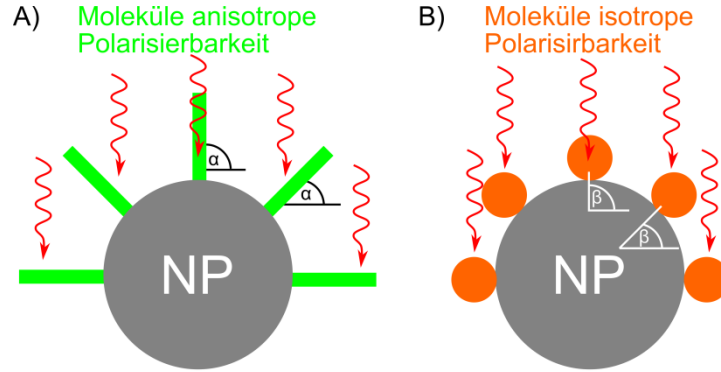


Abbildung 60 Modellannahmen für den SERS-Effekt beim Langmuir-SERS-Modell. A) Nanopartikel mit adsorbierten Stäbchenmolekülen und B) Nanopartikel mit sphärischen Molekülen. Die Form der Moleküle repräsentiert gleichzeitig in welcher Richtung ihre Polarisierbarkeit ausgeprägt ist.

Gl. 47
$$\bar{I}_{norm-ST} = \frac{\bar{I}_{ST}}{\bar{I}_{KU}}$$

Gl. 48
$$\bar{I}_{ST} = \int_0^{2\pi} \frac{\cos(\alpha)+1}{2} d(\alpha)$$

$$\text{Gl. 49} \quad \bar{I}_{KU} = \int_0^{2\pi} 1 \, d(\alpha)$$

$$\text{Gl. 50} \quad \bar{I}_{\text{norm-}ges} = \bar{I}_{\text{norm-}EF(EM)} \cdot \bar{I}_{\text{norm-ST}}$$

Für die Nanopartikelsuspension AgNP-3-IV und eine minimale und maximale Analyt-Konzentration von $c_{\min} = 1 \cdot 10^{-7} \text{ M}$ und $c_{\max} = 1 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ können die Anzahl an Molekülen pro Nanopartikel und die Fläche einer Adsorptionsposition berechnet werden. Für die minimale Konzentration ergibt sich eine Molekülanzahl pro Nanopartikel von rund 12 Molekülen. Wird diese Zahl mit dem Korrelationsfaktor für das SERS-Signal ($\bar{I}_{\text{norm-}ges}$) multipliziert und abgerundet auf die nächste volle Stelle, so ergibt sich eine Analyt Anzahl von einem Analyten pro Nanopartikel, der ein Signal liefert. Dies passt gut zu den Messungen, die unterhalb dieser Konzentration meist keinen interpretierbaren Peak mehr zeigen. Für die maximale Konzentration ergibt sich eine Fläche für einen Adsorptionsplatz von rund 5 \AA^2 für ein Molekül. Für AD kann anhand des molekularen Volumens ($= V_M$) aus der Literatur[155] eine Abschätzung für eine Kreisfläche als Adsorptionsplatz auf dem Nanopartikel berechnet werden. Dabei wird das molekulare Volumen des neutralen AD Moleküls verwendet ($V_M = 90 \text{ cm}^3 \text{ mol}^{-1}$), damit ergibt sich eine Kreisfläche von rund 28 \AA^2 . Diese ist größer als die berechnete Fläche auf dem Nanopartikel, liegt aber näherungsweise in der gleichen Größenordnung. Damit liefert das Langmuir-SERS-Modell sowohl für niedrige als auch für hohe Konzentrationen eine plausible Erklärung. Weiter zeigt die größere Fläche, dass höchstwahrscheinlich nicht alle Analyt-Moleküle auf dem Nanopartikel sind, sondern sich ein Teil an den Fasern des Papiers abscheidet.

4.3.3 Vergleich von Modellen für die Auswertung von SERS-Intensitäts-Konzentrationskurven

Da das Langmuir-SERS-Modell zumeist bei niedrigen Konzentrationen eine höhere Abweichung zeigt soll hier überprüft werden, ob ein erweitertes oder anderes Modell zu besseren Korrelationen führt. Dazu wurde aus den Messdaten der Konzentrationsreihen der negativ geladen Nanopartikel für alle fünf Analyten aus Kapitel 4.3.1 je eine Bande ausgewählt und diese dann mit sechs Fitmodellen angepasst. Dabei wurden alle Datenpunkte verwendet bis auf die bei den höchsten Konzentrationen, die einen Signalabfall zeigen. Die sechs Modelle, die verwendet wurden, sind eine Langmuir-Isotherme mit zwei Adsorptionsplätzen, die Freundlich-Isotherme, die BET-Isotherme, die Hill-Isotherme und die Frumkin-Isotherme und

als Referenz wurde ein Fit mit dem Langmuir-SERS-Modell über die gleichen Datenpunkte durchgeführt.

In der Abbildung 61 A bis F sind die jeweiligen Konzentrationskurven der verschiedenen Analyten mit den jeweiligen Fitkurven und den dazugehörigen Abweichungen aufgeführt. Wie gut an den dargestellten Fitfunktionen (Abbildung 61 A bis F) zu erkennen ist, zeigen alle bis auf die Freundlich-Isotherme den gleichen prinzipiellen Verlauf der Fit-Funktionen im Konzentrationsbereich der Datenpunkte. Die Freundlich-Isotherme hingegen zeigt meist sowohl im Konzentrationsbereich der Datenpunkte als auch außerhalb des Bereiches eine größere Abweichung von den Messdaten und auch von den anderen Fitfunktionen. Daher kann davon ausgegangen werden, dass die frei werdende Adsorptionsenergie mit zunehmendem Bedeckungsgrad nicht abnimmt.

Ein weiterer Punkt, der bei den Fitfunktionen auffällt ist, dass die BET-Isotherme bei AD, 4-NPT und 4-MBS bei hohen Konzentrationen einen Abfall der Signalintensität zeigt, was auch bei den Daten beobachtet wird. Die Fitparameter der Funktion zeigen, dass die Adsorptionskonstante für die zweite und weitere Lagen negativ ist, was eher einer Ablösung an Analyten entsprechen würde. Dies kann mit den bisherigen Erkenntnissen nicht erklärt werden.

Für den weiteren Vergleich der Fitfunktionen wurden die Abweichungen betrachtet (Abbildung 61 G bis L). Die Langmuir-Isotherme mit zwei Adsorptionsplätzen zeigt bei AD, 4-NTP und 4-MBS keinen signifikanten Unterschied der Abweichungen zu denen einer einfachen Langmuir-Isotherme. Bei $\text{Ru}(\text{bipy})_3$ sind bei kleineren Konzentrationen auch kleinere Abweichungen zu beobachten, was auf zwei unterschiedliche Adsorptionsplätze für $\text{Ru}(\text{bipy})_3$ hindeuten kann. Bei SRB werden erst kleine und dann größere Abweichungen im Vergleich zum Langmuir-SERS-Modell beobachtet. Daher kann für SRB bezüglich der Langmuir-Isotherme mit zwei Adsorptionsplätzen keine eindeutige Aussage getroffen werden. Es kann somit davon ausgegangen werden, dass bei den verwendeten Analyten keine zwei unterschiedlichen Adsorptionsplätze vorliegen. Einzig bei $\text{Ru}(\text{bipy})_3$ besteht ein Verdacht.

Die BET-Isotherme zeigt für alle fünf Analyten keinen signifikanten Unterschied der Abweichungen der gefitteten Punkte im Vergleich zum Langmuir-SERS-Modell. Daher und weil das Verhalten bei höheren Konzentrationen nicht erklärt werden kann, bringt diese Isotherme weder mehr Informationen noch bessere Ergebnisse.

Die Hill-Isotherme zeigt für AD, Ru(bipy)₃ und 4-NTP kleinere Abweichungen als das Langmuir-SERS-Modell bis zur Grenze der interpretierbaren Peaks. Bei SRB und 4-MBS zeigen sich zum Teil niedrigere aber auch höhere Abweichungen als bei dem Langmuir-SERS-Modell, daher sind dort keine eindeutigen Aussagen möglich. Aber aus den anderen drei Analyten kann darauf geschlossen werden, dass sich die Affinität mit der Analyt-Konzentration zum Teil ändern kann.

Die Frumkin-Isotherme zeigt keinen signifikanten Unterschied der Abweichungen der Fitpunkte zum Langmuir-SERS-Modell. Damit kann davon ausgegangen werden, dass die Wechselwirkung der adsorbierten Moleküle untereinander vernachlässigt werden kann was für das Langmuir-SERS-Modell spricht. Bei dem Fit mit der Frumkin-Isotherme muss jedoch beachtet werden, dass er sehr instabil ist und bei mehrfacher Ausführung nicht die gleichen Werte lieferte, da keine direkte Auflösung der Gl. 37 nach dem Bedeckungsgrad θ gefunden wurde.

Zusammenfassend wurde festgestellt, dass andere Isothermen für die Auswertung der SERS-Spektren genutzt werden können, diese aber meist keine verbesserte Korrelation zwischen Fitfunktionen und Messdaten liefern. Die einzige Isotherme, die eine gewisse Verbesserung der Fits zu den Messdaten zeigte, war die Hill-Isotherme. Aber sie und wie auch die anderen Funktionen verfügen über mehr Freiheitsgrade als das Langmuir-SERS-Modell, auch daher kann eine bessere Anpassung entstehen. Demzufolge gibt das Langmuir-SERS-Modell mit der geringsten Anzahl an Freiheitsgraden die beste Anpassung an die Messdaten.

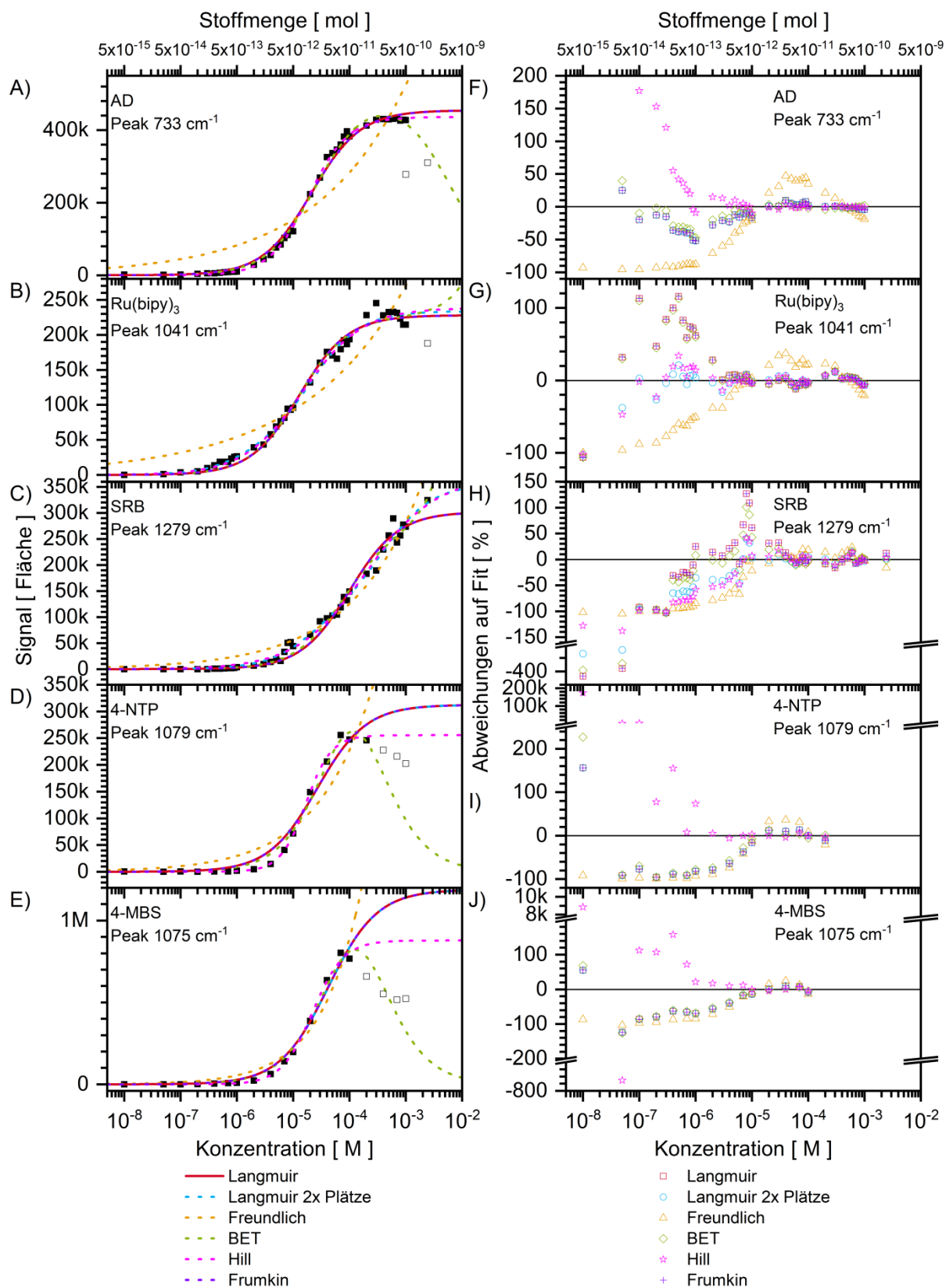


Abbildung 61 Fitfunktionen aller fünf Analyten mit den dazugehörigen Abweichungen der gefitteten Daten. Die Messdaten stammen aus Abbildung 53 bis Abbildung 57. Gefittet wurde über alle schwarz ausgefüllten Quadrate.

4.4 Konzentrationsabhängige Veränderung der Raman-Verschiebung

Bei den Konzentrationsuntersuchungen der fünf Analyten in Kapitel 4.3.1 wurde bei den Thiolmolekülen ein weiterer Effekt beobachtet. Die Thiole zeigen bei der Veränderung der Konzentration eine Änderung der SERS-Banden sowohl in ihrer Intensität als auch in ihrer Position im Spektrum. Deutlich lässt sich dies anhand der zwei Spektren von 4-NTP bei verschiedenen Konzentrationen in Abbildung 62 erkennen wo sich die Banden bei 1111 cm^{-1} , 1344 cm^{-1} und 1572 cm^{-1} verschieben. Die Verschiebung von SERS-Banden bei den Konzentrationskurvenmessungen soll in diesem Kapitel näher betrachtet werden.

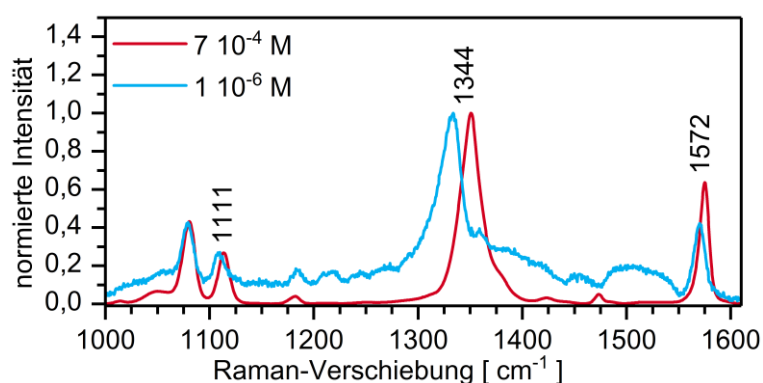


Abbildung 62 Gemittelte Spektren aus vier Einzelspektren von 4-NTP bei den Konzentrationen $7 \cdot 10^{-4}\text{ M}$ und $1 \cdot 10^{-6}\text{ M}$ aus den Messungen aus Abbildung 56. Spektren sind untergrundkorrigiert (lineare Korrektur) und auf das maximale Signal des jeweiligen Spektrums normiert.

Als Referenz und um zu zeigen, dass die Verschiebungen, die beobachtet wurden, nicht durch den Messaufbau oder die Präparationen der SERS-Proben entstanden sind, wurden zunächst die SERS-Banden von AD, Ru(bipy)₃ und SRB auf den negativen Silbernanopartikeln ausgewertet. In Abbildung 63 A bis F sind die Bandenpositionen von den drei Analyten in Abhängigkeit von der Konzentration aufgetragen. Wie diese Messungen zeigen, ist im Allgemeinen keine Verschiebung der SERS-Banden in Abhängigkeit von der Konzentration zu beobachten, solange die SERS-Banden eine ausreichende Intensität aufweisen und nicht von anderen Banden überlagert werden. Bei diesen Messungen ist nur eine messbedingte Schwankung der Peak-Positionen zu beobachten, wobei die maximalen Unterschiede zwischen den Peak-Positionen zwischen $0,2\text{ cm}^{-1}$ und $1,4\text{ cm}^{-1}$ liegen (Tabelle 16), das entspricht der doppelten Auflösung des Aufbaus, die zwischen $0,6\text{ cm}^{-1}$ und $0,7\text{ cm}^{-1}$ liegt. Bei Änderungen der Peak-Position kleiner $1,4\text{ cm}^{-1}$ wird von einer Schwankung ausgegangen, bei Änderungen der Peak-

Position gleich oder größer $1,4 \text{ cm}^{-1}$ kann eine konzentrationsabhängige Verschiebung des Peaks vorliegen. Bei niedrigeren Konzentrationen unter $1 \cdot 10^{-6} \text{ M}$ zeigen AD und SRB wesentlich stärkere Schwankungen in den Peak-Positionen, die bei $\text{Ru}(\text{bipy})_3$ erst bei noch geringeren Konzentrationen zu beobachten sind. Da der Untergrund in den gemessenen Bereichen der Peaks kein linearer Untergrund ist und durch den stärker werdenden Einfluss des Untergrundes auf das Spektrum bei geringen Signal-Intensitäten, werden unterschiedliche Peak-Positionen beobachtet. Im Regelfall hat jedoch die Konzentrationsänderung eines Analyten bei SERS-Messungen keinen Einfluss auf die Position der SERS-Banden des Analyten im Spektrum. Aufgrund dieser Beobachtungen bei AD, $\text{Ru}(\text{bipy})_3$ und SRB kann davon ausgegangen werden, dass die beobachteten Verschiebungen bei den beiden Thiolen 4-NTP und 4-MBS aus Kapitel 4.3.1 Effekte dieser Proben sind.

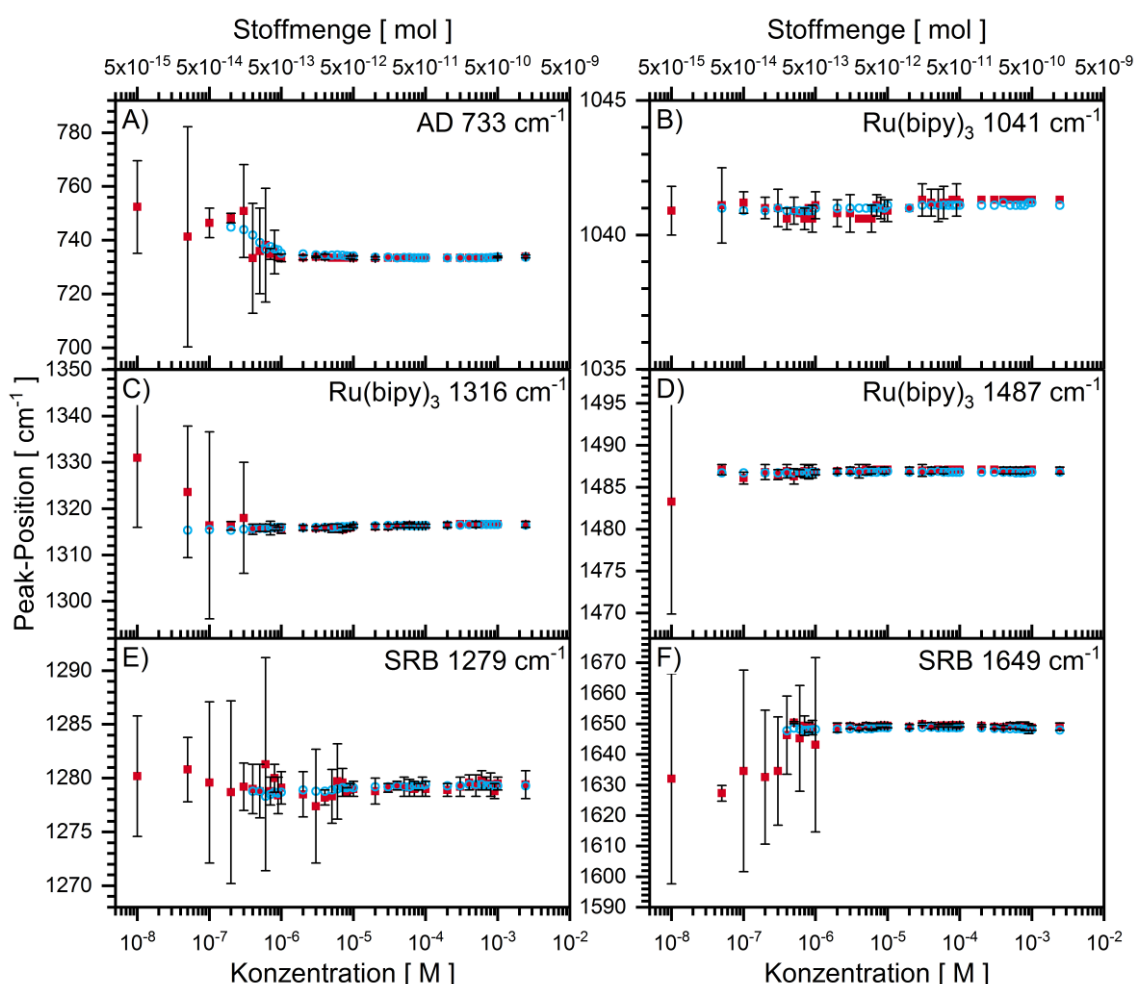


Abbildung 63 Auftragung der SERS-Peak-Position gegen die Konzentration des Analyten. Die Daten stammen aus den Messungen von AD, $\text{Ru}(\text{bipy})_3$ und SRB aus dem Kapitel 4.3.1 der Abbildung 53 bis Abbildung 55. Die roten Quadrate sind die Intensitätsmaxima aus den Messungen im analysierten Raman-

Verschiebungsbereich mit den maximalen Fehlern (LabVIEW-Analyseprogramm). Die blauen Kreise sind die Peak-Positionen der SERS-Banden, die aus den Fits der jeweiligen SERS-Banden (gemitteltetes Spektrum aus sechs einzelnen Spektren) bei der jeweiligen Konzentration bestimmt wurden.

4-NTP zeigt für die SERS-Bande bei 1182 cm^{-1} keine Verschiebung, nur eine Schwankung der Peak-Position, es ist kein Trend in den Peakposition zu beobachten (Abb. 64 E). Für den Peak bei 1080 cm^{-1} liegt die maximalen Verschiebungen bei $1,4\text{ cm}^{-1}$ und ist somit nur sehr gering ausgeprägt. Für 1111 cm^{-1} und 1572 cm^{-1} wurden eine deutliche Verschiebungen von um die $4,6\text{ cm}^{-1}$ und $4,9\text{ cm}^{-1}$ bei einer Konzentrationsänderung von $7\cdot 10^{-4}\text{ M}$ auf $4\cdot 10^{-6}\text{ M}$ und $7\cdot 10^{-4}\text{ M}$ auf $4\cdot 10^{-7}\text{ M}$ festgestellt (Tabelle 16). Wie in Abbildung 64 B, D und H zu sehen ist, kann bei einer logarithmischen Auftragung der Konzentration in erster Näherung ein linearer Fit der Messdaten nach Gl. 51 durchgeführt werden. Die Werte für die Parameter a und b der jeweiligen Fit-Graden sind in (Tabelle 16) aufgeführt.

$$\text{Gl. 51} \quad \tilde{\nu}_{\text{Peak}} = a \cdot \log(c_{\text{Analyt}}) + b$$

Die größte Verschiebung, die in dieser Arbeit gemessen wurde, zeigt die Streckschwingung der Nitrogruppe von 4-NTP bei 1344 cm^{-1} . Sie zeigt einen maximalen Peak-Positionsunterschied von 20 cm^{-1} (Fit-Positionen). Dabei muss beachtet werden, dass die Verschiebung der SERS-Bande drei Bereiche zeigt. Zwischen $1\cdot 10^{-3}\text{ M}$ und $1\cdot 10^{-4}\text{ M}$ ist nur eine geringere Verschiebung der Peak-Position zu beobachten. Im Bereich von $1\cdot 10^{-4}\text{ M}$ bis $2\cdot 10^{-6}\text{ M}$ wurde die größte Veränderung der Peak-Position mit der Konzentration beobachtet. In diesen beiden Bereichen verschiebt sich die Bandenposition mit abnehmender Analytkonzentration zu kleineren Wellenzahlen. Hingegen wird im dritten Bereich von $2\cdot 10^{-6}\text{ M}$ bis $2\cdot 10^{-7}\text{ M}$ eine Verschiebung zu größeren Wellenzahlen beobachtet. Werden die Verschiebungen der Banden bei 1080 cm^{-1} , 1111 cm^{-1} und 1572 cm^{-1} sowie die ersten beiden Bereiche der Verschiebung der Bande bei 1344 cm^{-1} betrachtet, so wurde immer eine Verschiebung der Peak-Position von größeren zu kleineren Wellenzahlen bei der Konzentrationsverringerung beobachtet. Damit wird für dieselben Schwingungen bei niedrigeren Konzentration auch weniger Energie zur Anregung dieser Schwingungen benötigt.

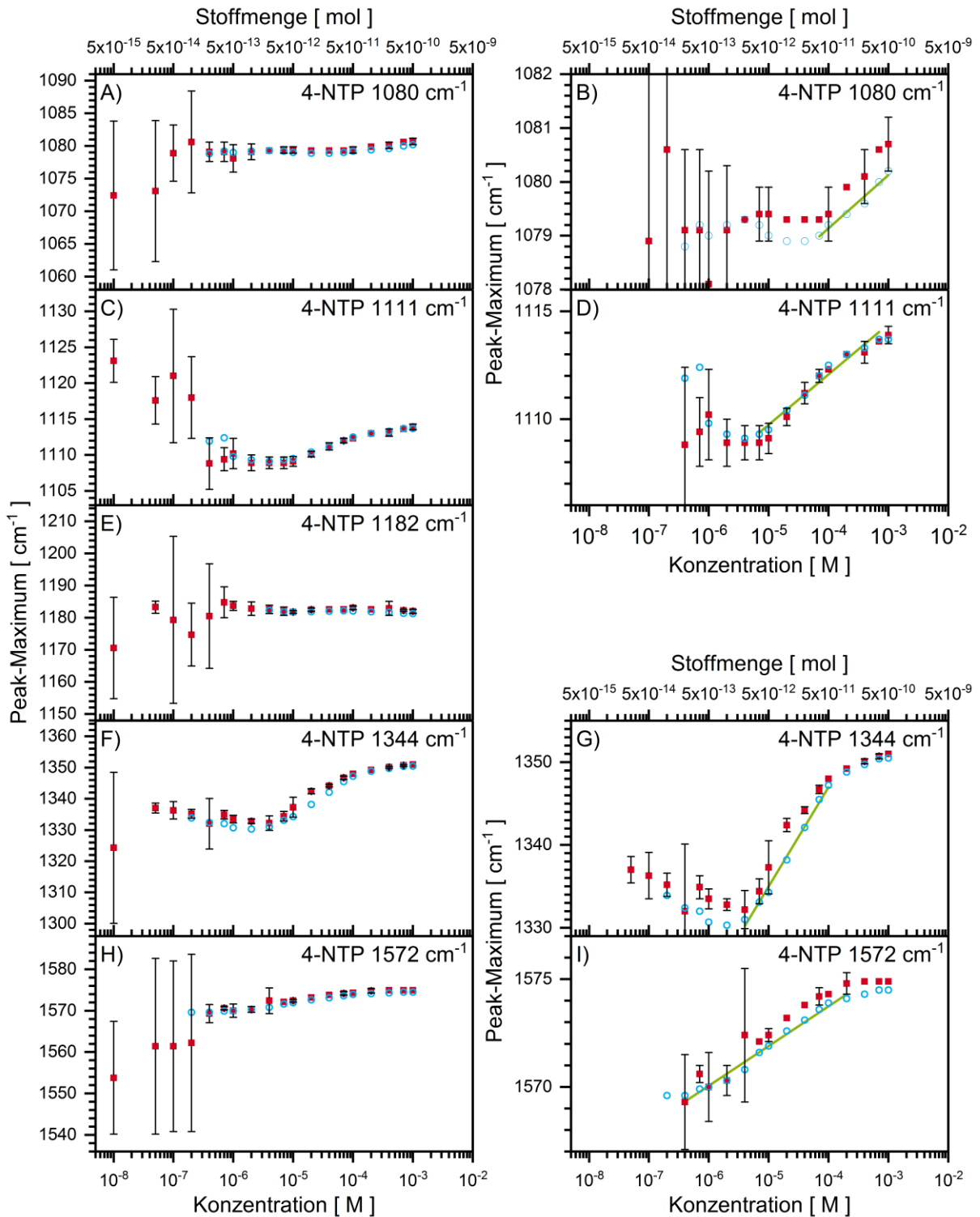


Abbildung 64 Auftragung der SERS-Peak-Position gegen die Konzentration von 4-NTP. Die Daten stammen aus den Messungen von 4-NTP aus dem Kapitel 4.3.1 aus der Abbildung 56. Die roten Quadrate sind die Intensitätsmaxima aus den Messungen im analysierten Raman-Verschiebungsbereich mit den maximalen Fehlern (LabVIEW-Analyseprogramm). Die blauen Kreise sind die Peak-Positionen der SERS-Banden, die aus den Fits der jeweiligen SERS-

Banden (gemittelttes Spektrum aus sechs einzelnen Spektren) bei der jeweiligen Konzentration bestimmt wurden. Die grüne Linie ist der lineare Fit der Peak-Verschiebung der Datenpunkte, die die Linie umfasst.

Im Vergleich zu 4-NTP zeigen alle ausgewerteten SERS-Banden von 4-MBS eine Verschiebung der Peak-Position. Alle folgen dem gleichen Muster, die Wellenzahl nimmt mit der Konzentration des Analyten ab. Bei der Schwingung bei 1076 cm^{-1} wird zudem derselbe Effekt wie bei 4-NTP bei 1344 cm^{-1} beobachtet, dass ab einer bestimmten Konzentration mit sinkender Konzentration eine Verschiebung der SERS-Bande wieder zu größeren Wellenzahlen beobachtet wird. Die maximalen Verschiebungen der SERS-Banden liegen hier zwischen $2,6\text{ cm}^{-1}$ und $8,6\text{ cm}^{-1}$ (Tabelle 16), wobei die SERS-Bande bei 1585 cm^{-1} bei diesem Molekül die größte Verschiebung zeigt.

Da beide Thiol-Moleküle den Effekt der Verschiebung von SERS-Banden bei der Konzentrationsänderung des Analyten zeigen, aber AD, Ru(bipy)₃ und SRB nicht, stellt sich die Frage, ob es ein Effekt der Thiol-Funktionalität der Moleküle ist. Aus der Literatur ist für Dimethyldithiolkolensäure [115] bekannt, dass es ebenfalls Verschiebung von einer SERS-Bande bei Veränderung der Konzentration zeigt. Darüber hinaus wurden Verschiebungen von SERS-Banden bei Thiolen beobachtet, die als Reportermoleküle (konstante Thiol-Konzentration) dienen, wie z.B. 4-Aminothiophenol,[111, 113] 4-MBS,[112, 114, 116, 117] 5,5'-Dithiobis(2-nitrobenzoic acid) [118] oder 5,5'-Dithiobis(succinimidyl-2-nitrobenzoat).[116] Aus diesem Grund wurden die Konzentrationsreihen von vier weiteren Thiolen mit unterschiedlicher molekularer Struktur aufgenommen (Abbildung 66). Bei diesen Thiolen handelt es sich um 4-(tert-Butyl)thiophenol (4-TBTP), Cyclohexanthiol (CHT), 1-Pentanthiol (1-PT) und 1-Hexanthiol (1-HT).

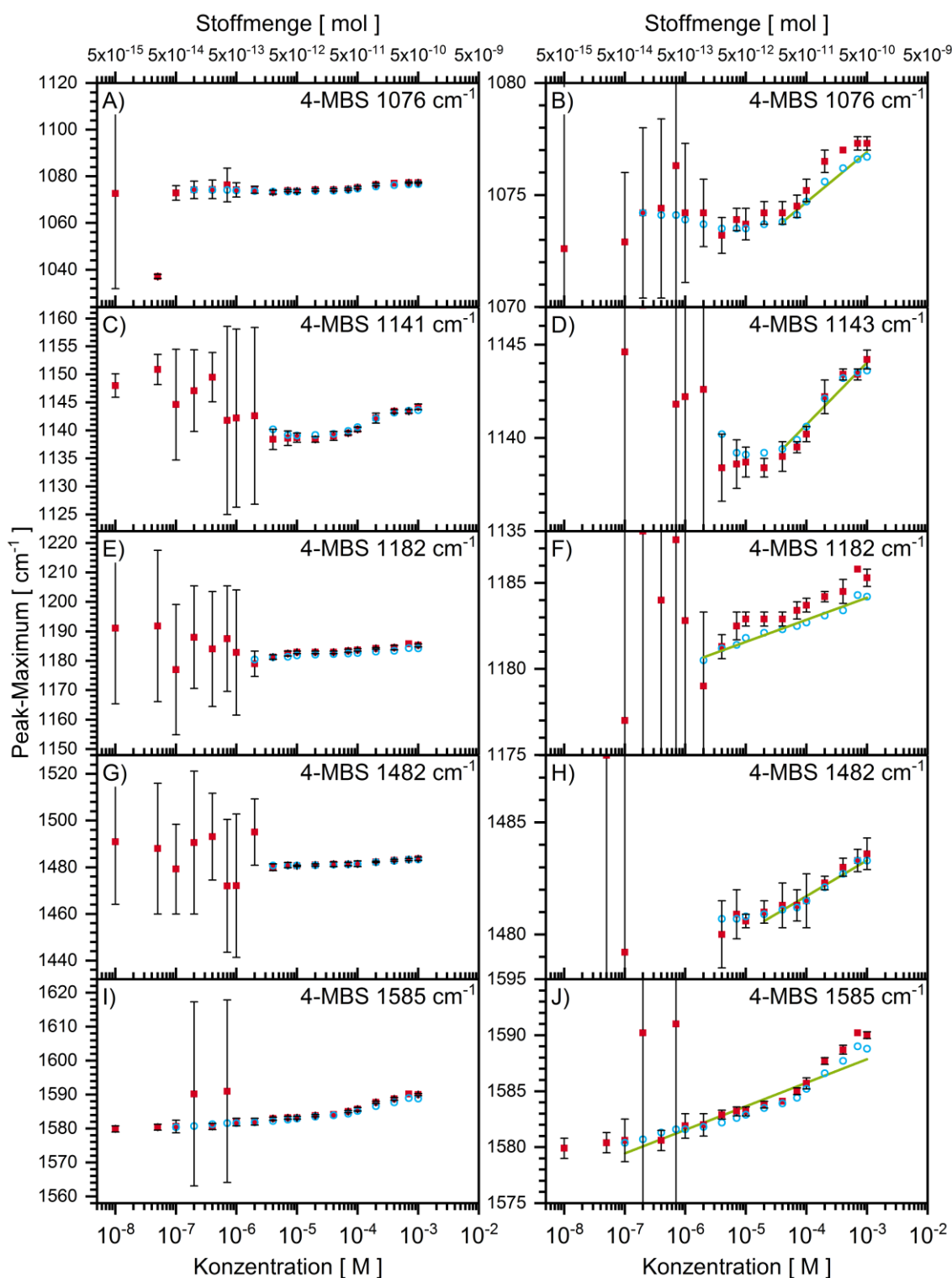


Abbildung 65 Auftragung der SERS-Peak-Position gegen die Konzentration von 4-MBS. Die Daten stammen aus den Messungen von 4-MBS aus dem Kapitel 4.3.1 aus der Abbildung 57. Die roten Quadrate sind die Intensitätsmaxima aus den Messungen im analysierten Raman-Verschiebungsbereich mit den maximalen Fehlern (LabVIEW-Analyseprogramm). Die blauen Kreise sind die Peak-Positionen der SERS-Banden, die aus den Fits der jeweiligen SERS-

Banden (gemitteltetes Spektrum aus sechs einzelnen Spektren) bei der jeweiligen Konzentration bestimmt wurden. Die grüne Linie ist der lineare Fit der Peak-Verschiebung der Datenpunkte, die die Linie umfasst.

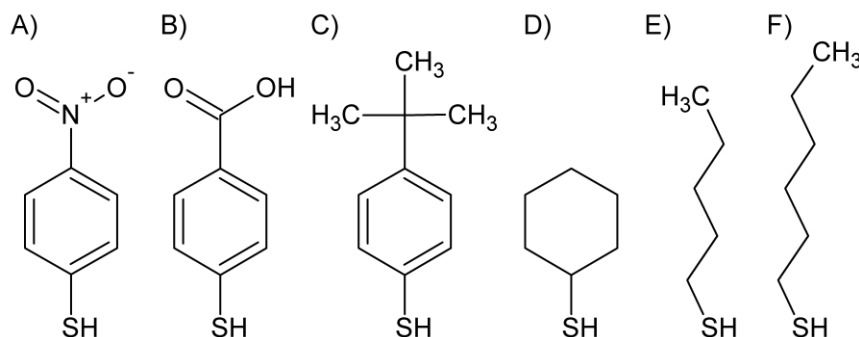


Abbildung 66 Strukturformeln der sechs vermessenen Thiole A) 4-NTP, B) 4-MBS, C) 4-TBTP, D) CHT, E) 1-PT und F) 1-HT.

4-TBTP hat im Vergleich zu 4-NTP und 4-MBS an der Position vier eine Elektronen schiebende Gruppe. Für 4-TBTP konnten nur die SERS-Banden bei 1073 cm^{-1} und 1586 cm^{-1} ausgewertet werden (Abbildung 67 A bis C), da alle anderen Banden zu schwach vom Signal her waren. Für beide Peaks wurde eine Verschiebung der Banden-Position um maximal $1,9\text{ cm}^{-1}$ und $4,8\text{ cm}^{-1}$ beobachtet (Tabelle 16). Somit zeigen alle drei Thiophenol-Derivate eine Verschiebung der SERS-Banden um 1075 cm^{-1} und 1580 cm^{-1} .

CHT weist einen zyklischen Ring auf, aber kein delokalisiertes Elektronensystem. Es bildet ein Zwischenstück zwischen den Thiophenol- und Thioalkan-Derivaten. Aus Vormessungen von CHT, 1-PT und 1-HT konnte der Messbereich mit den intensivsten Peaks mit einem Bereich von ca. 600 cm^{-1} bis 1300 cm^{-1} für die Messungen ausgewählt werden. Für CHT konnten in diesem Bereich vier SERS-Banden analysiert werden, von denen nur die SERS-Peaks bei 710 cm^{-1} und 1024 cm^{-1} eine Verschiebung zeigen. Die größte Verschiebung von $7,6\text{ cm}^{-1}$ wurde bei dem SERS-Peak bei 710 cm^{-1} beobachtet.

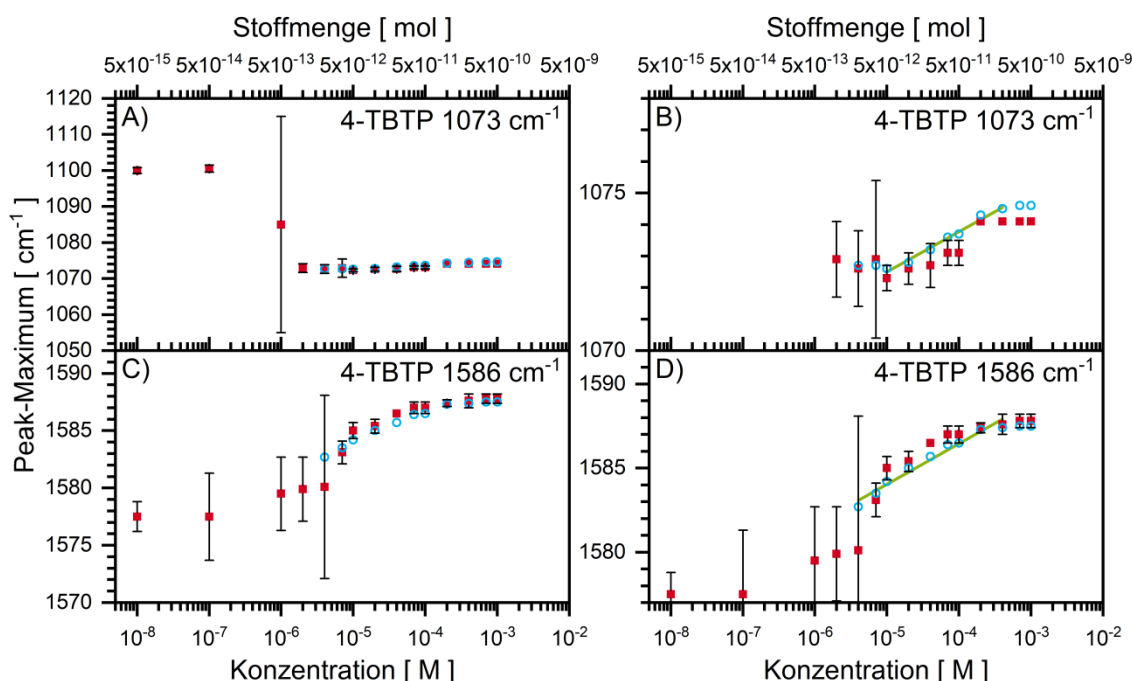


Abbildung 67 Auftragung der SERS-Peak-Position gegen die Konzentration von 4-TBTP. Die roten Quadrate sind die Intensitätsmaxima aus den Messungen im analysierten Raman-Verschiebungsbereich mit den maximalen Fehlern (LabVIEW-Analyseprogramm). Die blauen Kreise sind die Peak-Positionen der SERS-Banden, die aus den Fits der jeweiligen SERS-Banden (gemitteltetes Spektrum aus vier einzelnen Spektren) bei der jeweiligen Konzentration bestimmt wurden. Die grüne Linie ist der lineare Fit der Peak-Verschiebung der Datenpunkte, die die Linie umfasst. Messung von Testpunkten am LMA (DZ = 60 s; GT = 1800 L mm⁻¹) und präpariert nach der Standardmethode (AgNP-3).

Die letzten zwei gemessenen Thiole sind 1-PT und 1-HT, beides Alkan-Derivate. Für die beiden Analyten sind jeweils nur zwei SERS-Banden ausgewertet worden, weil sie von allen hier vorgestellten Analyten die schwächsten SERS-Signale liefern. Genauso wie CHT zeigen die Thio-Alkane eine SERS-Verschiebung bei der SERS-Bande um 700 cm⁻¹ (Abbildung 69 A & B und Abbildung 70 A & B). Dabei ist bei diesen Messungen neben dem einfachen Fit des Peaks der jeweiligen Konzentration noch eine Deconvolution des Peaks durchgeführt worden, weil dieser von einem zweiten überlagert wird. Dabei zeigte sich, dass die Daten aus der Deconvolution besser mit den Messdaten übereinstimmten als die Daten des einfachen Peak-Fits. Die prinzipielle Aussage der Verschiebung bleibt in beiden Fällen dieselbe, bloß mit anderen Werten für a und b beim linearen Fit.

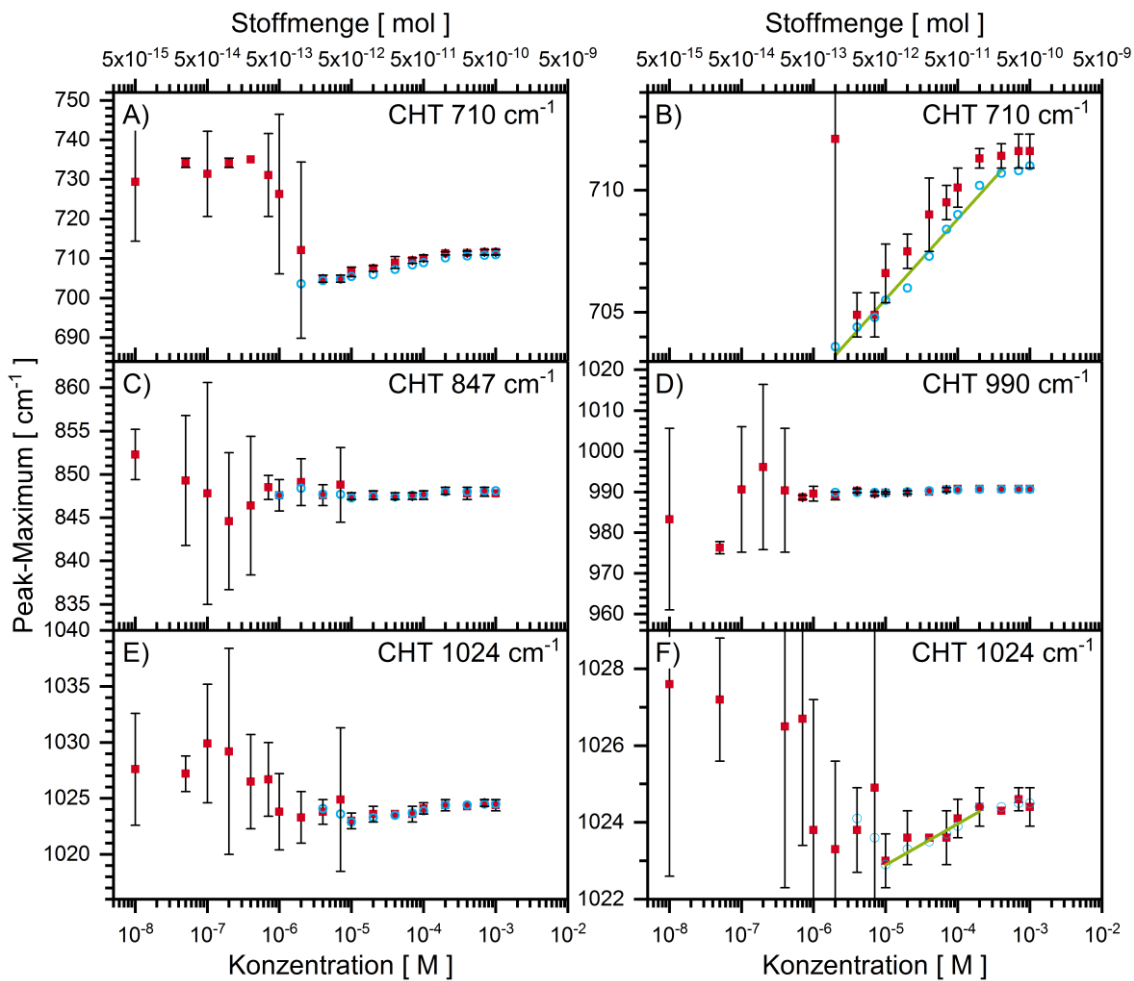


Abbildung 68 Auftragung der SERS-Peak-Position gegen die Konzentration von CHT. Die roten Quadrate sind die Intensitätsmaxima aus den Messungen im analysierten Raman-Verschiebungsbereich mit den maximalen Fehlern (LabVIEW-Analyseprogramm). Die blauen Kreise sind die Peak-Positionen der SERS-Banden, die aus den Fits der jeweiligen SERS-Banden (gemitteltetes Spektrum aus vier einzelnen Spektren) bei der jeweiligen Konzentration bestimmt wurden. Die grüne Linie ist der lineare Fit der Peak-Verschiebung der Datenpunkte, die die Linie umfasst. Messung von Testpunkten am LMA (DZ = 60 s; GT = 1800 L mm⁻¹) und präpariert nach der Standardmethode (AgNP-3).

Damit kann festgehalten werden, dass alle hier gemessen Thiole mindestens bei einer SERS-Bande eine Verschiebung zeigen. Bei den Thio-Phenolen ist es die Kombinationsschwingung um 1580 cm⁻¹ oder die Kombinationsschwingung um 1075 cm⁻¹ und bei den aliphatischen

Verbindungen ist es die S-C Steckschwingung (um 705 cm^{-1}). Aus diesen und den Befunden aus der Literatur [115] kann verallgemeinert werden, dass Thiolverbindungen bei SERS-Messungen mit unterschiedlichen Konzentration mindestens eine SERS-Bande zeigen, die sich in ihrer Peak-Position verschiebt. Diese Verschiebungen für diese drei Banden liegen zwischen $1,4\text{ cm}^{-1}$ und $9,6\text{ cm}^{-1}$ in der maximalen Verschiebung bei den hier vermessenen Verbindungen. Damit könnte die Bestimmung der Peak-Position neben der Peak-Intensität als Konzentrationsbestimmungsmethode für Thiolverbindungen verwendet werden.

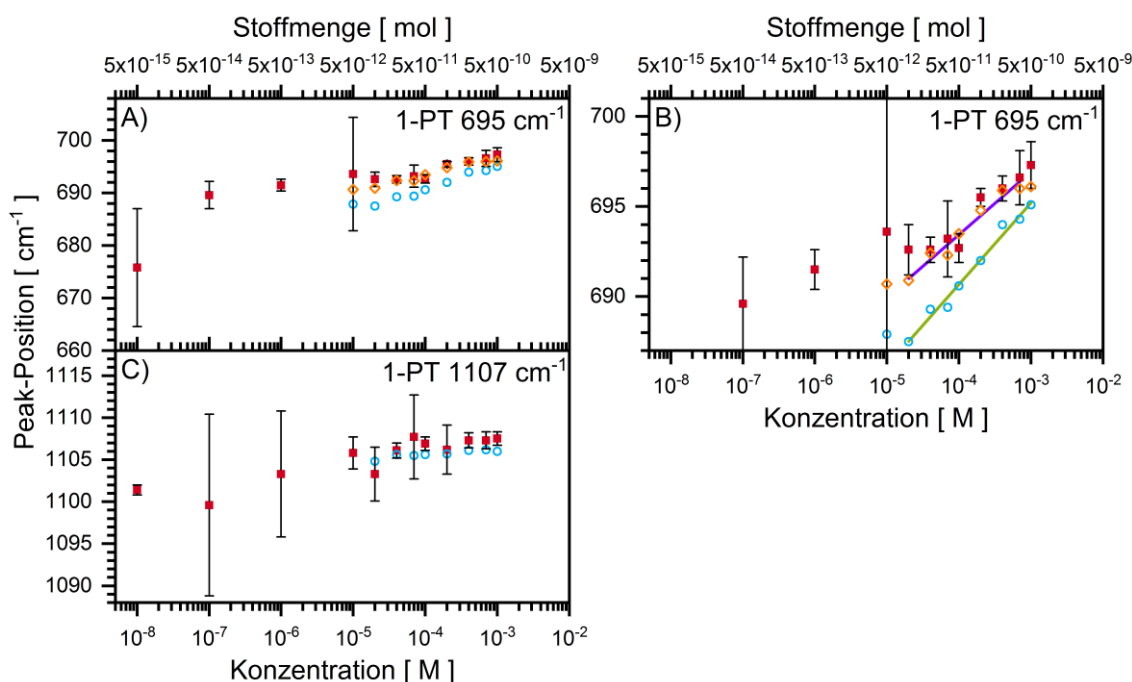


Abbildung 69 Auftragung der SERS-Peak-Position gegen die Konzentration von 1-PT. Die roten Quadrate sind die Intensitätsmaxima aus den Messungen im analysierten Raman-Verschiebungsbereich mit den maximalen Fehlern (LabVIEW-Analyseprogramm). Die blauen Kreise sind die Peak-Positionen der SERS-Banden, die aus den Fits der jeweiligen SERS-Banden (gemitteltes Spektrum aus vier einzelnen Spektren) bei der jeweiligen Konzentration bestimmt wurden. Die grüne Linie ist der lineare Fit der Peak-Verschiebung der Datenpunkte, die die Linie umfasst. Die orangen Rauten sind die Peak-Positionen aus der Deconvolution und die lila Linie ist die dazugehörige Fit-Grade. Messung von Testpunkten am LMA (DZ = 60 s; GT = 1800 L mm^{-1}) und präpariert nach der Standardmethode (AgNP-3).

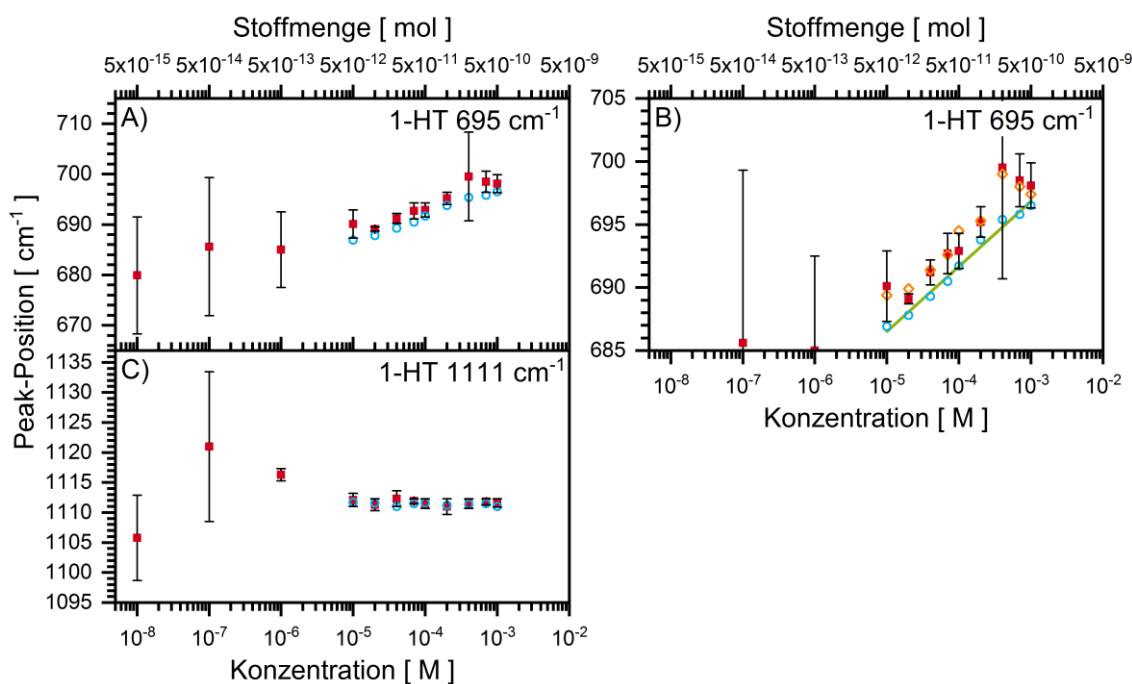


Abbildung 70 Auftragung der SERS-Peak-Position gegen die Konzentration von 1-HT. Die roten Quadrate sind die Intensitätsmaxima aus den Messungen im analysierten Raman-Verschiebungsbereich mit den maximalen Fehlern (LabVIEW-Analyseprogramm). Die blauen Kreise sind die Peak-Positionen der SERS-Banden, die aus den Fits der jeweiligen SERS-Banden (gemitteltetes Spektrum aus vier einzelnen Spektren) bei der jeweiligen Konzentration bestimmt wurden. Die grüne Linie ist der lineare Fit der Peak-Verschiebung der Datenpunkte, die die Linie umfasst. Die orangen Rauten sind die Peak-Positionen aus der Deconvolution. Messung von Testpunkten am LMA (DZ = 60 s; GT = 1800 L mm^{-1}) und präpariert nach der Standardmethode (AgNP-3).

Da ja neben den Messungen mit den negativen Silbernanopartikeln auch noch zwei Konzentrationsreihen mit positiven Silbernanopartikeln gemessen wurden, wurden diese ebenfalls analysiert. Dabei wurden sowohl bei AD als auch bei SRB Verschiebungen je einer SERS-Bande beobachtet. Die maximale Verschiebung bei AD beträgt $2,7 \text{ cm}^{-1}$ (Tabelle 16) und folgt dem Trend der Thiolverbindungen der Verschiebung zu kleineren Wellenzahlen bei kleineren Konzentrationen. Bei SRB wurde eine maximale Verschiebung von $5,0 \text{ cm}^{-1}$ beobachtet (Tabelle 16), die anders als bei allen anderen hier betrachteten Molekülen eine Verschiebung zu größeren Wellenzahlen mit abnehmender Konzentration zeigt. Damit hängt die Beobach-

tung des Verschiebungseffektes nicht nur von den analysierten Molekülen ab, sondern auch von der Oberflächenbeschaffenheit der genutzten Nanopartikel.

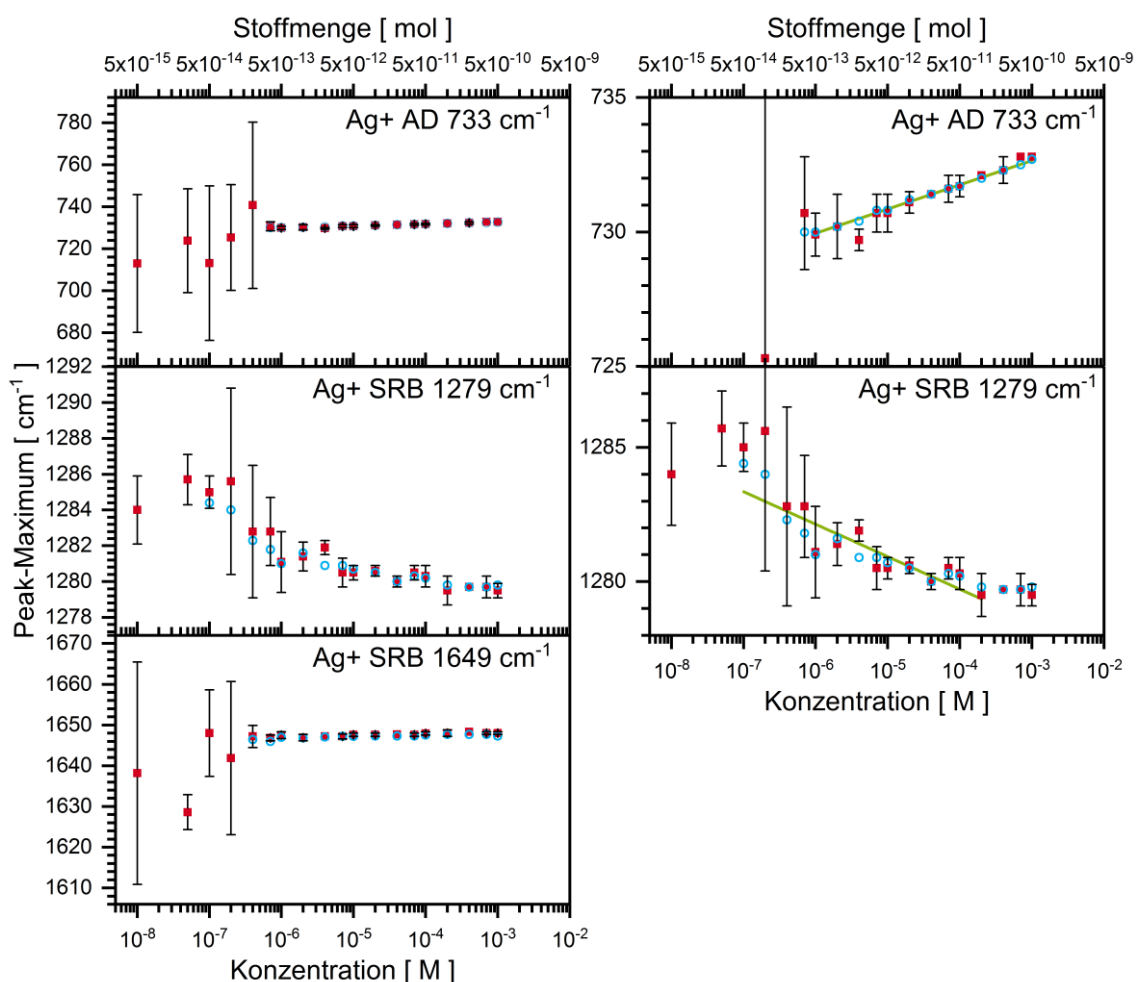


Abbildung 71 Auftragung der SERS-Peak-Position gegen die Konzentration von AD und SRB. Die Daten stammen aus den Messungen von AD und SRB aus dem Kapitel 4.3.1 aus der Abbildung 59. Die roten Quadrate sind die Intensitätsmaxima aus den Messungen im analysierten Raman-Verschiebungsbereich mit den maximalen Fehlern (LabVIEW-Analyseprogramm). Die blauen Kreise sind die Peak-Positionen der SERS-Banden, die aus den Fits der jeweiligen SERS-Banden (gemitteltetes Spektrum aus vier einzelnen Spektren) bei der jeweiligen Konzentration bestimmt wurden. Die grüne Linie ist der lineare Fit der Peak-Verschiebung der Datenpunkte, die die Linie umfasst.

Tabelle 16 Werte für die maximale ($\tilde{\nu}_{Fit-max}$) und minimale ($\tilde{\nu}_{Fit-min}$) Peak-Position der Analyten mit den dazu gehörigen Konzentrationen ($c_{Fit-max}$ und $c_{Fit-min}$) und den jeweiligen maximalen Verschiebungen ($\Delta\tilde{\nu}_{max-Fit}$). sowie die Werte für a und b aus den linearen Fitfunktionen der Verschiebungen. Alle Werte stammen aus Abbildung 63 bis Abbildung 65 und Abbildung 67 bis Abbildung 71. Die hier dargestellten Werte sind gerundet.

Analyt	$\tilde{\nu}_{Fit-max}$	$\tilde{\nu}_{Fit-min}$	$c_{Fit-max}$	$c_{Fit-min}$	$\Delta\tilde{\nu}_{max-Fit}$	a	b
AD (733 cm ⁻¹)	734,9	733,5	2 10 ⁻⁶	7 10 ⁻⁴	1,4	--	--
Ru(bipy) ₃ (1041 cm ⁻¹)	1041,2	1040,9	4 10 ⁻⁴	9 10 ⁻⁷	0,3	--	--
Ru(bipy) ₃ (1316 cm ⁻¹)	1316,6	1315,4	4 10 ⁻⁴	2 10 ⁻⁷	1,2	--	--
Ru(bipy) ₃ (1487 cm ⁻¹)	1486,9	1486,7	8 10 ⁻⁶	8 10 ⁻⁷	0,2	--	--
SRB (1279 cm ⁻¹)	1279,4	1278,3	1 10 ⁻⁴	6 10 ⁻⁷	1,1	--	--
SRB (1649 cm ⁻¹)	1648,9	1647,8	4 10 ⁻⁵	4 10 ⁻⁷	1,1	--	--
4-NTP (1080 cm ⁻¹)	1080,2	1078,8	1 10 ⁻³	4 10 ⁻⁷	1,4	0,99	1083,09
4-NTP (1111 cm ⁻¹)	1113,7	1109,1	7 10 ⁻⁴	4 10 ⁻⁶	4,6	2,33	1121,41
4-NTP (1182 cm ⁻¹)	1182,9	1181,3	2 10 ⁻⁶	1 10 ⁻³	1,6*	--	--
4-NTP (1344 cm ⁻¹)	1350,5	1330,3	1 10 ⁻³	2 10 ⁻⁶	20,2	11,99	1394,96
4-NTP (1572 cm ⁻¹)	1574,5	1569,6	7 10 ⁻⁴	4 10 ⁻⁷	4,9	1,84	1581,12
4-MBS (1075 cm ⁻¹)	1076,7	1074,1	1 10 ⁻³	4 10 ⁻⁷	2,6	2,24	1083,65
4-MBS (1143 cm ⁻¹)	1143,6	1139,1	1 10 ⁻³	1 10 ⁻⁵	4,5	4,01	1156,79
4-MBS (1184 cm ⁻¹)	1184,3	1180,5	7 10 ⁻⁴	2 10 ⁻⁶	3,8	1,28	1187,99
4-MBS (1483 cm ⁻¹)	1483,3	1480,7	1 10 ⁻³	4 10 ⁻⁶	2,6	1,60	1488,10
4-MBS (1585 cm ⁻¹)	1589	1580,4	7 10 ⁻⁴	1 10 ⁻⁷	8,6	2,10	1594,18
4-TBTP (1073 cm ⁻¹)	1074,6	1072,7	7 10 ⁻⁴	7 10 ⁻⁶	1,9	1,27	1078,87
4-TBTP (1586 cm ⁻¹)	1587,5	1582,7	7 10 ⁻⁴	4 10 ⁻⁶	4,8	2,42	1596,13
HCT (710 cm ⁻¹)	711,0	703,6	1 10 ⁻³	2 10 ⁻⁶	7,4	3,28	721,96
HCT (847 cm ⁻¹)	848,1	847,3	7 10 ⁻⁴	1 10 ⁻⁵	0,8	--	--
HCT (990 cm ⁻¹)	990,7	989,8	2 10 ⁻⁴	1 10 ⁻⁵	0,9	--	--
HCT (1024 cm ⁻¹)	1024,5	1022,9	7 10 ⁻⁴	1 10 ⁻⁵	1,6	1,07	1028,25
1-PT (695 cm ⁻¹)	695,1	687,5	1 10 ⁻³	2 10 ⁻⁵	7,6	4,53	708,79
1-PT (695 cm ⁻¹ / Deconvolution)	696,1	690,7	1 10 ⁻³	1 10 ⁻⁵	5,4	3,49	707,41
1-PT (1107 cm ⁻¹)	1106,2	1104,8	7 10 ⁻⁴	2 10 ⁻⁵	1,4	--	--
1-HT (695 cm ⁻¹)	696,5	686,9	1 10 ⁻³	1 10 ⁻⁵	9,6	5,16	712,32
1-HT (1111 cm ⁻¹)	1111,7	1111	1 10 ⁻⁵	4 10 ⁻⁵	0,7	--	--
AD (733 cm ⁻¹ / AgNP ⁺)	732,7	730,0	1 10 ⁻³	1 10 ⁻⁶	2,7	0,90	735,35
SRB (1279 cm ⁻¹ / AgNP ⁺)	1284,7	1279,7	5 10 ⁻⁸	4 10 ⁻⁴	5	-1,21	1274,87
SRB (1649 cm ⁻¹ / AgNP ⁺)	1647,7	1646	2 10 ⁻⁴	7 10 ⁻⁷	1,7*	--	--

* = Zeigen Unterschiede in den Bandenpositionen größer 1,4 cm⁻¹ sind aber keine Verschiebungen der Banden mit einem Trend.

Die Verschiebungen bei den Thiolen werden auf unterschiedliche Effekte zurückgeführt. Der am häufigsten angegebene Effekt in der Literatur ist der mechanische Stress.[111-113, 116, 118] Dieser Effekt wird immer dann beobachtet, wenn eine zusätzliche Kraft auf die Thiole wirkt, z.B. wenn es gestaucht wird. In den Literaturstellen wird diese Kraft z.B. durch das große Gewicht der an die Thiole gebundenen Antikörper oder Antikörper mit Antigen hervorgerufen.[111, 113, 116, 118] Da in den hier gemachten Messungen keine Antikörper oder andere große Moleküle an die Thiole gebunden sind, kann dieser mechanische Stress ausgeschlossen werden. Ein weiterer Faktor, der für 4-MBS schon beobachtet wurde, ist, dass wenn ein kleines Molekül wie Anilin zu AgNP-4-MBS SERS-Material gegeben wird, sich eine Verschiebung der SERS-Banden aufgrund der intermolekularen Wasserstoffbrückenbindungen zwischen dem AgNP-4-MBS Komplex und Anilin zeigt.[114] Da keine weiteren Moleküle zu den Proben hinzugesetzt wurden, ist auch dieser Effekt unwahrscheinlich.

Ein Beispiel für eine SERS-Verschiebung ohne den Einfluss zusätzlicher anderer Moleküle oder Veränderung der Randbedingungen sondern nur durch die Veränderung der Konzentration des Thiols auf dem SERS-Substrat, ist für Dimethyldithiolkohlensäure bekannt.[115] Dabei wird die Verschiebung der betrachteten SERS-Bande damit erklärt, dass bei geringeren Thiol Konzentrationen das Thiol-Molekül mehr Platz hat. Damit hat es für die Schwingungen mehr Freiheitsgrade und benötigt daher mehr Energie, um die betrachtete Schwingung anzuregen. Die dabei beobachtete Verschiebung der SERS-Bande ist jedoch genau entgegengesetzt zu den Verschiebungen, die hier beobachtet werden.

Die Interpretation, dass der Platz, den das Molekül auf dem Nanomaterial hat, einen Einfluss auf die SERS-Banden haben kann, würde aber zu den hier gemachten Beobachtungen passen. Ein gebundenes Thiol-Molekül benötigt weniger Energie zur Anregung einer Schwingung, wenn es unabhängig von anderen gebundenen Thiol-Molekülen schwingen kann. Bei den Thiophenol-Derivaten wird davon ausgegangen, dass sie sich senkrecht zur Nanopartikeloberfläche ausrichten (Abbildung 72). Durch das π - π -Stacking, welches mit zunehmender Konzentration zunehmen würde (Abbildung 72 B), entsteht eine Kopplung der Thiophenol-Derivate. Diese Kopplung bewirkt, dass bei allen Schwingungen, bei denen ein Biegeschwungsanteil der AgNP-S-C Bindung oder eine $\nu(\text{SC})$ -Streckschwingung enthalten ist, ein Anstieg der Schwingungsfrequenz zu beobachten sein sollte. Das trifft z.B. auf die Schwingungen bei um die 1580 cm^{-1} (Tabelle 16) zu, welche eine Kombination aus $\nu(\text{CC})$ und $\delta(\text{AgNP-SC})$ ist und auf die Schwingung bei 1077 cm^{-1} , welche eine Kombination aus $\nu(\text{SC})$ und Ringatemschwingung ist. Der Effekt zeigt sich auch bei Schwingungen, bei denen die Elekt-

ronendichte im Benzolring stark variiert wird. Dies ist der Fall z.B. bei 4-NTP bei der symmetrischen Streckschwingung der Nitrogruppe ($\nu(\text{NO}_2) \approx 1344 \text{ cm}^{-1}$; Tabelle 16) des Moleküls. Durch die Kopplung des π - π -Stackings müssen immer alle Phenolmoleküle die Veränderung der Position des Benzolrings mit machen ($\delta(\text{AgNP-SC})$ oder $\nu(\text{SC})$), was je größer die Anzahl an Molekülen wird immer mehr Energie benötigt um die gesamte Gruppe an Molekülen in die selbe Schwingung zu versetzen. Und das selbe gilt auch für die Veränderung der Elektronendichte im Ring. Bei 4-NTP ist durch die starke Kopplung der Moleküle die größte Verschiebung bei der $\nu(\text{NO}_2)$ -Schwingung zu beobachten.

Bei den aliphatischen Derivaten der Thiole gibt es kein π - π -Stacking, aber es treten immer noch die Van-der-Waals-Kräfte zwischen den Molekülen auf. Aus den SERS-Spektren der aliphatischen Thiole kann abgeleitet werden (SERS-Bande um die $700 \text{ cm}^{-1} \approx \nu(\text{SC})$), dass sich die Moleküle näherungsweise aufrecht zur Nanopartikeloberfläche ausgerichtet haben (Abbildung 72 C & D).[44] Dabei zeigt sich, dass die SC-Streckschwingung ($\nu(\text{SC}) \approx 700 \text{ cm}^{-1}$; Tabelle 16) genau wie bei den Thiophenolen eine Verschiebung zeigt, da auch hier die Gruppenstruktur der Moleküle durch die $\nu(\text{SC})$ -Streckschwingung stark beeinflusst wird. Hingegen zeigt die CC-Streckschwingung ($\nu(\text{CC}) \approx 1115 \text{ cm}^{-1}$; Tabelle 16) keine oder nur eine sehr geringe Verschiebung.

Somit werden immer dann Verschiebungen von Bandenpositionen bei SERS-Konzentrationsreihen-Messungen von Thiol-Analyten beobachtet, wenn sich die Moleküle stark gegenseitig beeinflussen und sich bei einer Schwingung die Gruppenstruktur der Thiole mitbewegen muss.

Bei AD und SRB sind die Verschiebungen auf einen anderen Effekt zurückzuführen. Es kann davon ausgegangen werden, dass die Wasserstoffbrückenbindungen vom Polymer mit AD und SRB die Ursache für die Verschiebung sind. Wie in Abbildung 43 dargestellt, hat der pH-Wert einen starken Einfluss auf die SERS-Bandenposition von AD. Ein Erklärungsansatz ist mit abnehmender Konzentration von AD wird der Einfluss des Polymers immer stärker, was einer pH-Wert Abnahme entspricht und die SERS-Bande der Ringatemschwingung von AD zu kleineren Wellenzahlen verschiebt. Aus der Literatur ist bekannt, dass die SERS-Signalintensität von SRB ebenfalls stark vom pH-Wert beeinflusst wird,[101] damit liegt die Annahme nahe, dass auch die Position der SERS-Banden von SRB pH-Wert beeinflusst sein könnten. Bei SRB scheint der gleiche Effekt aufzutreten, nur dass hier die SERS-Bande bei 1279 cm^{-1} zu größeren Wellenzahlen verschoben wird.

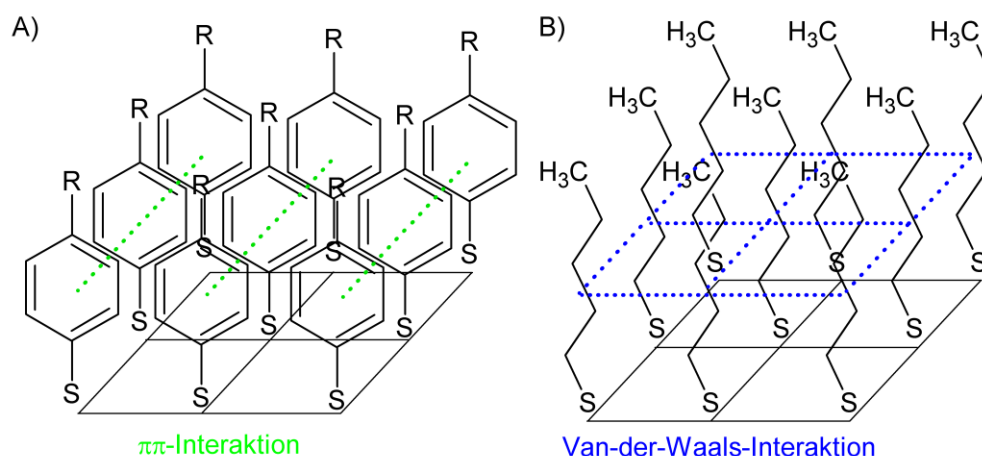


Abbildung 72 Veranschaulichung der Interaktion der Thiol-Moleküle auf den Nanopartikeln, A) Thiophenol-Derivate und B) aliphatische Thiole.

4.5 Auftrennung von Proben auf μ PADs

Bisher wurden in dieser Arbeit Analysen von Einkomponentensystemen dargestellt. Um in Richtung realer Proben zu gehen, wurden Mischungen mit einem kombinierten Ansatz für die Detektion von mehreren Analyten untersucht.

4.5.1 Chromatographisches Verhalten verschiedener Analyten

Zur Analyse von Mischungen wurden für ein besseres Verständnis des Analysesystems zunächst die Einzelkomponenten analysiert. Als Modellsystem wurden Mischungen aus AD, Ru(bipy)₃ und SRB untersucht. Als Analysesystem für Mischungen sind μ PADs der Form in Abbildung 73 verwendet worden. Es sind drei verschiedene Beschichtungsvarianten genutzt worden. Diese Varianten sind von oben nach unten in Abbildung 73 B dargestellt, die voll beschichteten μ PADs, die Ein-Zonen-beschichteten μ PADs und unbeschichtete μ PADs. Für die Auswertungen der kompletten Chromatogramme, wie sie in Abbildung 74 dargestellt werden, wurden alle drei μ PAD-Typen vor einer SERS-Messung voll beschichtet, wenn sie nicht schon voll beschichtet waren. Ohne Beschichtung mit Nanopartikeln wäre kein Signal der Analyten zu beobachten.

In der Abbildung 74 sind die SERS-Chromatogramme von AD, Ru(bipy)₃ und SRB auf den drei verschiedenen Typen von μ PADs dargestellt. Für AD zeigt sich eine starke Beeinflussung der Chromatographie auf den μ PADs mit der Nanopartikelbeschichtung. Bei einer vollen Be-

schichtung wird AD am Auftragungspunkt (Punkt B) adsorbiert und wird nicht mit dem Lösungsmittel transportiert. Bei einer Ein-Zonen-Beschichtung wird AD bis zu dem Punkt, der

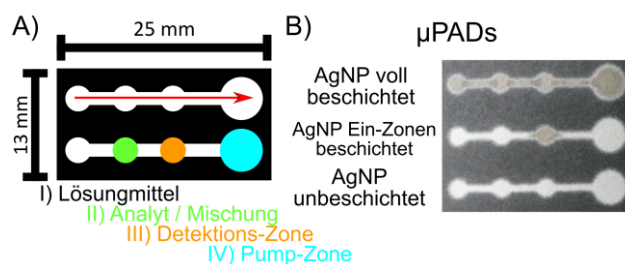


Abbildung 73 A) Layout der μ PADs mit Größenangabe, Bezeichnung der einzelnen Zonen und Angabe der Fließrichtung des Lösungsmittels (roter Feil). B) Foto von drei μ PADs mit den drei verwendeten Nanopartikel-Beschichtungen. Von oben nach unten: voll beschichtetes μ PDA, Ein-Zonen-beschichtetes μ PAD und unbeschichtetes μ PAD.

mit Nanopartikeln beschichtet ist, transportiert (Zone C) und nicht weiter. Wird ein unbeschichtetes μ PAD benutzt, so zeigt sich auch nach dem Punkt C ein Signal von AD. Dieses Verhalten von AD passt gut zur hohen Adsorptionskonstanten aus Tabelle 13 und dazu, dass AD eine mittlere Affinität zum verwendeten Papier aufweist. $\text{Ru}(\text{bipy})_3$ weist bei dem hier verwendeten Papier-Nanopartikel-System keine signifikante Beeinflussung der Chromatogramme durch unterschiedliche Nanopartikelbeschichtungen auf, da der positiv geladene Ruthenium-Komplex sowohl zu den negativen Nanopartikeln als auch zu den Hydroxylgruppen des Papiers eine starke Affinität aufweist. Dem gegenüber steht SRB, welches ebenfalls keine signifikante Beeinflussung der Chromatogramme bei unterschiedlichen Beschichtungen zeigt. Aber im Gegensatz zu $\text{Ru}(\text{bipy})_3$ wird SRB etwa bis zum Ende des μ PADs durch das Lösungsmittel transportiert. Dies kann auf die geringe Affinität des negativen SRBs zu den negativen Nanopartikeln und den Hydroxylgruppen des genutzten Papiers zurückgeführt werden.

Für $\text{Ru}(\text{bipy})_3$ und SRB können im gemessenen Wellenzahlbereich mehrere SERS-Banden ausgewertet werden. Dabei werden dieselben Banden ausgewertet wie für die Konzentrationsmessungen (Kapitel 4.3). In Abbildung 75 sind diese Banden dargestellt und es ergeben sich für diese Banden von $\text{Ru}(\text{bipy})_3$ und SRB annähernd die gleichen Chromatogramme wie in Abbildung 74. Die Unterschiede liegen meist bei Schwankungen des Signals in den Bereichen des μ PADs, in denen sich der Analyt nicht befindet. Damit kann jede ausreichend intensive SERS-Bande für die Auswertung der Chromatogramme genutzt werden.

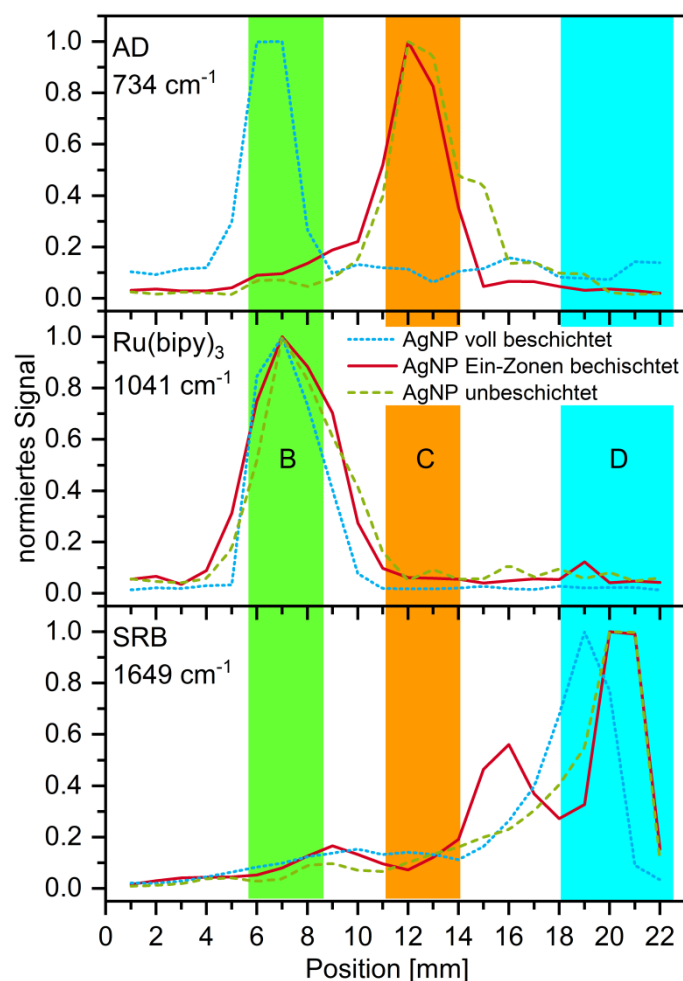


Abbildung 74 Chromatogramme von AD ($c = 10^{-4}$ M), Ru(bipy)₃ ($c = 10^{-4}$ M) und SRB ($c = 10^{-5}$ M). Aufgetragen sind die normierten Signalflächen der SERS-Banden (Normierung auf das höchste Signal eines jeden einzelnen Chromatogrammbereichs; AD 734 cm⁻¹/ Ru(bipy)₃ 1041 cm⁻¹/ SRB 1649 cm⁻¹). Die Messungen erfolgten auf den μ PAD-Typen aus Abbildung 73 B. Die Präparation der μ PADs erfolgte nach der Präparation aus Kapitel 3.5 für μ PADs und die SERS-Messungen erfolgten am LMA (DZ = 60 s; GT = 1800 L mm⁻¹). Es sind 22 Messungen im Abstand von 1 mm in einer Linie gemessen worden. Die blauen Linien sind gemessen auf voll-beschichteten μ PADs, die roten auf Ein-Zonen-beschichteten μ PADs und die grünen auf unbeschichteten μ PADs.

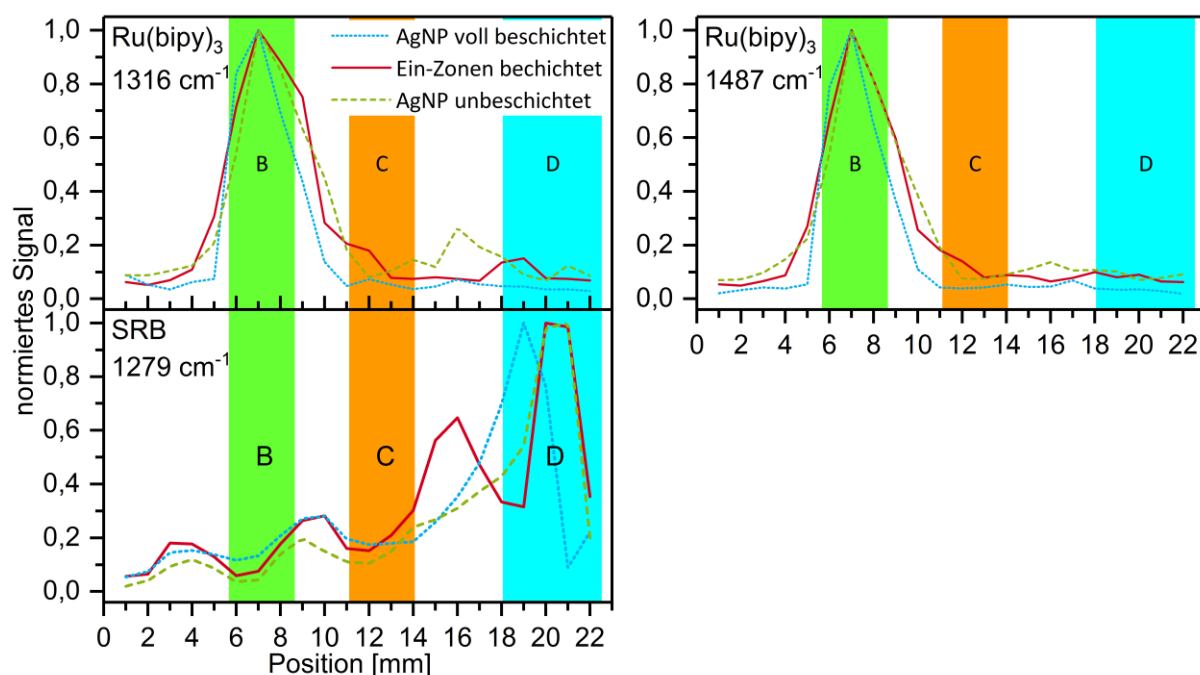


Abbildung 75 Chromatogramme von $\text{Ru}(\text{bipy})_3$ ($c = 10^{-4} \text{ M}$) und SRB ($c = 10^{-5} \text{ M}$) aufgetragen sind die normierten Signalflächen der SERS-Banden (Normierung auf das höchste Signal eines jeden einzelnen Chromatogramm-Bereichs; $\text{Ru}(\text{bipy})_3$ 1316 cm^{-1} und 1487 cm^{-1} / SRB 1279 cm^{-1}). Die Messungen erfolgten auf den μPAD -Typen aus Abbildung 73 B. Die Präparation der μPAD s erfolgt nach einer der Präparation aus Kapitel 3.5 für μPAD s und die SERS-Messungen erfolgten am LMA ($\text{DZ} = 60 \text{ s}$; $\text{GT} = 1800 \text{ L mm}^{-1}$). Es sind 22 Messungen im Abstand von 1 mm in einer Linie gemessen worden. Die blaue Linie sind gemessen auf voll beschichteten μPAD s, die roten auf Ein-Zonen beschichteten μPAD s und die grünen auf unbeschichteten μPAD s.

Da AD einen signifikanten Einfluss der verschiedenen Beschichtungen auf die Chromatogramme zeigt, wurde für AD getestet, was passiert, wenn bei einem Ein-Zonen-beschichteten μPAD die Nanopartikel-Zone verschoben wird. Die Nanopartikel-Zone wurde einmal um einen 1 mm in Richtung Zone B verschoben und einmal um 1 mm in Richtung Zone D verschoben (Änderung der Layouts der μPAD s). Als Ergebnis der Verschiebung der Zone C ist eine Verschiebung des Maximums des AD-Chromatographie-Peaks im gleichen Maße der Verschiebung der Zone C zu beobachten (1 mm, Abbildung 76). Somit ist es möglich, AD an einem definierten Punkt auf dem μPAD zu adsorbieren und es dort zu detektieren.

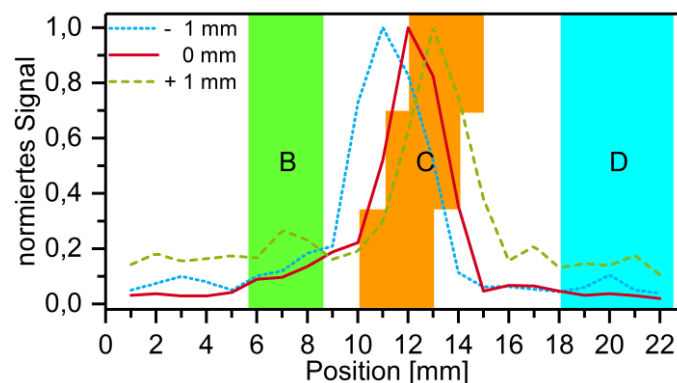


Abbildung 76 Chromatogramme von AD ($c = 10^{-4}$ M). Aufgetragen sind die normierten Signalfächen der SERS-Bande bei 734cm^{-1} (Normierung auf das höchste Signal eines jeden einzelnen Chromatogramm-Bereichs). Die Messungen erfolgten auf Ein-Zonen-beschichteten μPADs aus Abbildung 73 B. Die Präparation der μPADs erfolgte nach der Präparation aus Kapitel 3.5 für Ein-Zonen-beschichtete μPADs und die SERS-Messungen erfolgten am LMA (DZ = 60 s; GT = 1800 L mm^{-1}). Es sind 22 Messungen im Abstand von 1 mm in einer Line gemessen worden. Die Punkte der blauen Line wurden gemessen auf einem μPAD mit Zone C -1 mm, die der roten auf einem μPAD mit Zone C 0 mm und die der grünen auf einem μPAD mit Zone C +1 mm.

Ebenfalls wurde überprüft, welchen Einfluss die positiv geladenen Nanopartikel auf die Chromatographie haben. Zu diesem Zweck wurden Messungen auf Ein-Zonen und voll-beschichteten μPADs durchgeführt. Eine Besonderheit stellt dabei die Vollbeschichtung bei $\text{Ru}(\text{bipy})_3$ dar, da $\text{Ru}(\text{bipy})_3$ kein SERS-Signal auf den positiven Silbernanopartikeln gibt und aus den vorhergehenden Messungen angenommen wird, dass nur eine geringe Affinität zwischen den positiven Silbernanopartikeln und $\text{Ru}(\text{bipy})_3$ -Molekülen besteht. Daher wurden die positiv geladenen Nanopartikel nur bis zur Zone C aufgetragen, ab einschließlich Zone C bis zum Ende des μPADs wurden die negativen Nanopartikel aufgetragen. In Abbildung 77 sind die Messungen der drei Analyten dargestellt. Wie leicht zu erkennen ist, zeigen die drei Analyten stark veränderte Chromatogramme zu den mit negativen Nanopartikeln gemessenen μPADs in Abbildung 74. AD zeigt sowohl für die Ein-Zonen als auch für voll-beschichteten μPADs , dass der Analyt weiter in Richtung Zone D transportiert wird und nicht dort komplett adsorbiert wird, wo er auf Nanopartikel trifft. Dennoch wird das höchste Signal von AD an etwa denselben Positionen wie bei den μPADs mit den negativen Nanopartikeln beobachtet. Bei $\text{Ru}(\text{bipy})_3$ kann im Bereich der positiven Nanopartikel auf dem μPAD kein Signal für den Analyten identifiziert werden. Dafür zeigt sich direkt am Anfang der negativen Nanopartikel

im Bereich von 11 mm bis 14 mm ein identifizierbares Signal des Rutheniumkomplexes. Somit werden die Moleküle, sobald sie den Bereich mit positiven Nanopartikeln verlassen haben, von den negativen Nanopartikeln und dem Papier adsorbiert. Bei SRB ist auf den positiven Nanopartikeln ein ähnliches Verhalten wie bei AD auf den negativen Nanopartikeln zu beobachten. Bei einem voll-beschichteten μ PAD bleibt SRB zum größten Teil an der Startposition stehen und bei einem Ein-Zonen-beschichteten μ PAD wird der größte Teil direkt an der Zone C festgehalten. Werden die Daten aus den Chromatogrammen (Abbildung 74 & Abbildung 77) mit denen aus den Konzentrationsmessungen in Kapitel 4.3.1 verglichen ergeben sich verschiedene Punkte. AD und $\text{Ru}(\text{bipy})_3$ werden aufgrund ihrer verringerten Affinitäten zu den positiven Nanopartikeln auf den μ PADs weiter transportiert. Dieser Effekt ist in beiden Fällen auf die starke positive Oberflächenladung der Nanopartikel zurückzuführen, welche AD und $\text{Ru}(\text{bipy})_3$ abstoßen. Zudem kann davon ausgegangen werden, dass die Polymerbeschichtung an die Nanopartikel gebunden ist und dass sich diese Nanopartikel nicht sonderlich auf dem Papier bewegen, wenn sie getrocknet sind, da ansonsten die Bande des $\text{Ru}(\text{bipy})_3$ noch weiter in Richtung Zone D verschoben wäre. Bei SRB wurde zwar nur eine geringe Adsorptionskonstante bei Messungen mit positiven Nanopartikeln bestimmt, aber wie schon im Kapitel 4.3.1 dargelegt, können diese Werte für K_L -SRB auch zu klein sein. Dies würde zu den hier gemachten Beobachtungen bei der Chromatographie passen, dass die Moleküle stärker von den Nanopartikelbereichen zurückgehalten werden. Dieses Rückhalte-Verhalten kann nur auf die erhöhte Affinität von SRB zu den positiven Nanopartikeln zurückgeführt werden. Dies würde zudem mit den Messungen aus Abbildung 44 in Einklang stehen, nach denen bei noch höheren Polymerkonzentrationen auf der Nanopartikeloberfläche das SERS-Signal von SRB abnimmt, da weniger SRB-Moleküle nah genug an die Nanopartikel kommen, um ein SERS-Signal zu zeigen. Daher ist der reale Wert der Adsorptionskonstante für SRB-Moleküle, die ein SERS-Signal liefern, wahrscheinlich höher als der für die negativen Nanopartikel. Somit kommt ein ähnliches Verhalten wie bei AD zustande, was auf eine Adsorptionskonstante hinweist, die in der Größenordnung zwischen AD und SRB auf negativen Nanopartikeln liegen sollte. Dieser Wert kann aber mit den hier genutzten Methoden nicht bestimmt werden und da die beiden anderen Analyten auch kein vorteilhaftes chromatographisches Verhalten auf den μ PADs mit positiven Nanopartikeln zeigen, werden die Untersuchungen von Mischungen auf den μ PADs mit negativ geladenen Nanopartikeln durchgeführt.

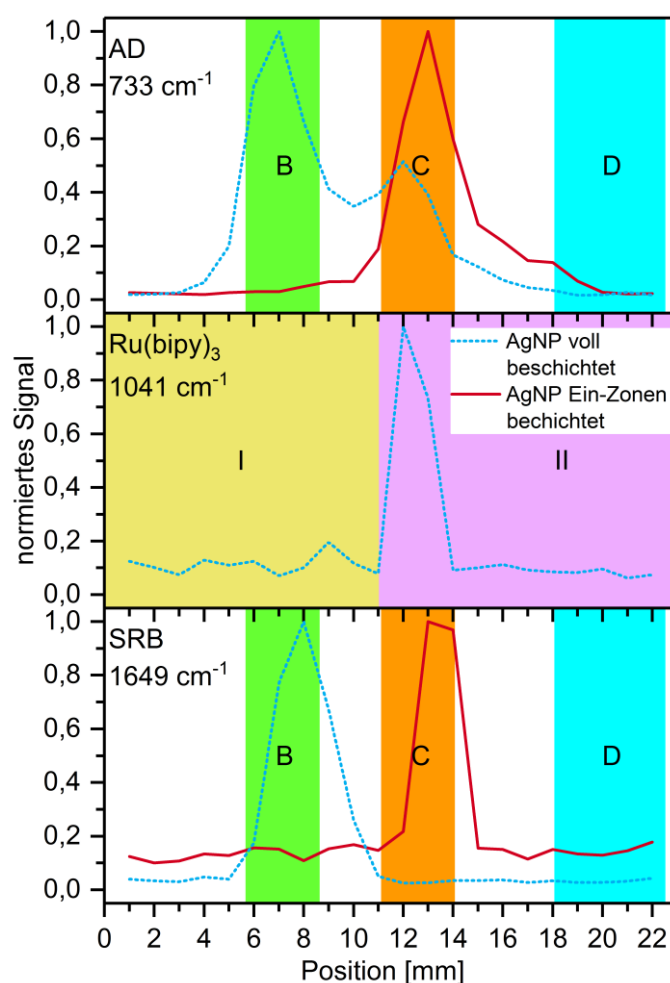


Abbildung 77 Chromatogramme von AD ($c = 10^{-4}$ M), $\text{Ru}(\text{bipy})_3$ ($c = 10^{-4}$ M) und SRB ($c = 10^{-5}$ M). Aufgetragen sind die normierten Signalfächen der SERS-Banden (Normierung auf das höchste Signal eines jeden einzelnen Chromatogramms im Messbereich; AD 733 cm^{-1} / $\text{Ru}(\text{bipy})_3$ 1041 cm^{-1} / SRB 1649 cm^{-1}). Die Messungen erfolgten auf den μPAD -Typen aus Abbildung 73 B. Die Präparation der μPAD s erfolgte nach der Präparation aus Kapitel 3.5 für μPAD s (Ein-Zonen oder Vollbeschichtung) und die SERS-Messungen erfolgten am LMA (DZ = 60 s; GT = 1800 L mm^{-1}). Bei $\text{Ru}(\text{bipy})_3$ ist die Präparation aus Kapitel 3.5 für die Vollbeschichtung abgewandelt worden, siehe Absatz vor dieser Abbildung. Es sind 22 Messungen im Abstand von 1 mm in einer Line gemessen worden. Die Punkte der blauen Linie wurden auf voll-beschichteten μPAD s und die der roten Linie auf Ein-Zonen-beschichteten μPAD s gemessen.

4.5.2 Modellsystem auf μ PADs

Als Modellsystem für eine Mischung mehrerer gelösten Komponenten wurde ein System aus AD, $\text{Ru}(\text{bipy})_3$ und SRB untersucht. Wie aus Abbildung 78 zu erkennen ist, werden die SERS-Spektren von Mischungen meist von dem Signal einer Komponente dominiert. Je nach Konzentration dominiert das Signal einer Komponente. Zudem überlagern sich die SERS-Banden der einzelnen Analyten. Für die Auflösung der Überlagerung der drei Komponenten wurde die Auftrennung der Komponenten durch Chromatographie auf den μ PADs verwendet.

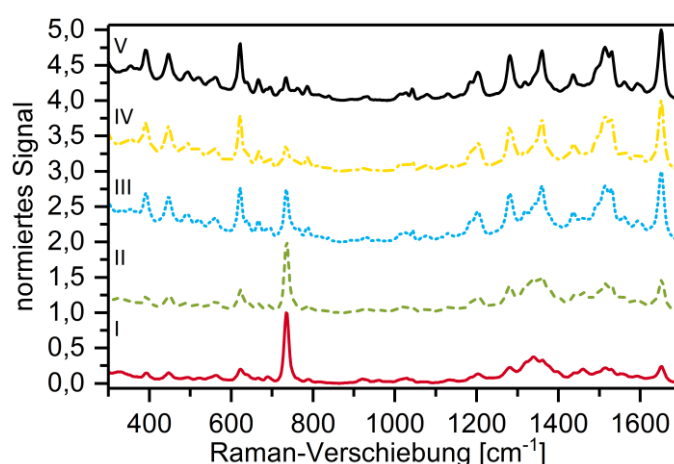


Abbildung 78 Messung von fünf Konzentrationen von AD in einer konstanten Matrix aus $\text{Ru}(\text{bipy})_3$ ($c = 1 \cdot 10^{-5} \text{ M}$) und SRB ($c = 1 \cdot 10^{-5} \text{ M}$) auf Testpunkten am Raman-Mikroskop (LWL = 633 nm; DZ = 1 s; SPS = 10; OB = 10 \times ; GT = 300 L mm^{-1} ; LAS = 10 %). Mischungen I bis V haben die AD-Konzentrationen von $c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ (I), $5 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ (II), $1 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ (III), $5 \cdot 10^{-6} \text{ M}$ (IV) und $1 \cdot 10^{-6} \text{ M}$ (V). Die Präparation der Testpunkte erfolgte nach der Standardmethode.

In Abbildung 79 und Abbildung 80 ist die Auswertung der Mischung III, in welcher alle drei Komponenten die gleiche Konzentration von $c = 1 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ aufweisen, als 3D- und 2D-Chromatogramm dargestellt. Neben dem 3D-Chromatogramm ist nochmal ein μ PAD-Streifen gezeigt, wie er für die Aufnahme eines kompletten Chromatogramms aussieht (Abbildung 79). Er ist für den besseren Vergleich so skaliert, dass die Positionen im Diagramm in etwa mit denen auf dem μ PAD übereinstimmen. Zudem sind über dem 3D-Chromatogramm noch die normierten SERS-Spektren von AD, $\text{Ru}(\text{bipy})_3$, SRB, vom Wachs des μ PADs und von einer Untergrundmessung als Referenz aufgeführt. Weil in diesen Messungen teils ein verstärkter Untergrund beobachtet wurde, sollen diese Daten der besseren Zuordnung dienen. Dabei ist festzustellen, dass sowohl das Wachs als auch der Untergrund einen Beitrag zum

Spektrum liefern. Diese Beiträge können aber durch eine geeignete Wahl der SERS-Banden und des ausgewerteten Bereiches der SERS-Banden kompensiert werden.

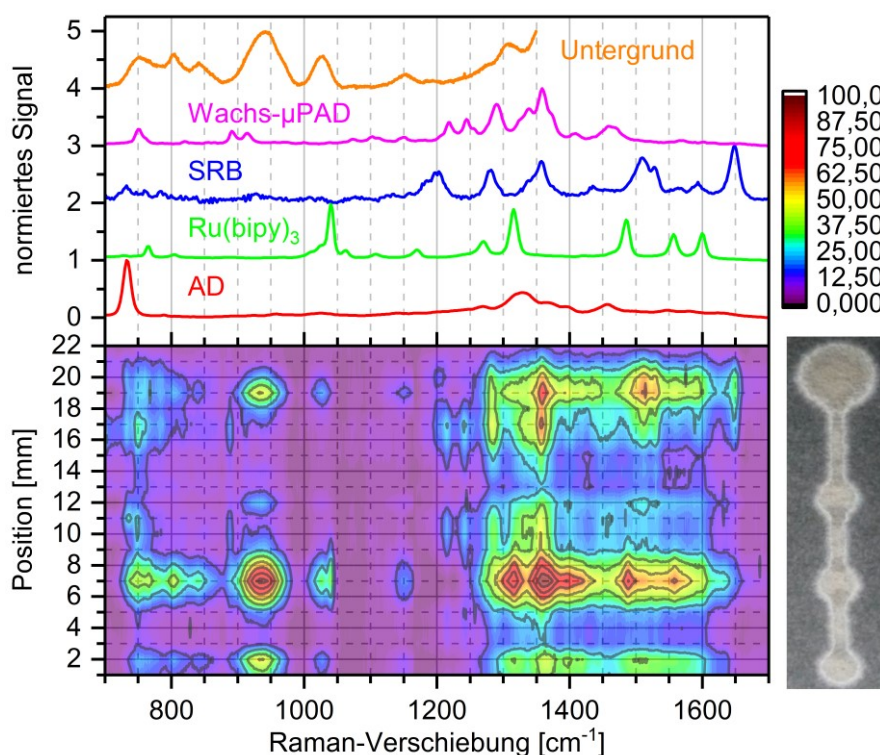


Abbildung 79 3D-Chromatogramme von Mischung III Abbildung 78. Aufgetragen ist die Position in Millimetern gegen die Raman-Verschiebung und die Farbe gibt die normierte Signalintensität wieder. Die Messungen erfolgten auf Ein-Zonen-beschichteten μ PADs (Abbildung 73 B), präpariert nach der Präparation aus Kapitel 3.5 und die SERS-Messungen erfolgten am LMA (DZ = 60 s; GT = 1800 L mm⁻¹). Es wurden zwei Messreihen aufgenommen, die bei 1164 cm⁻¹ verbunden wurden. Es sind 22 Messungen im Abstand von 1 mm in einer Linie gemessen worden. Die Referenzspektren von AD, Ru(bipy)₃, SRB und μ PAD-Wachs sind am Raman-Mikroskop aufgenommen worden (LWL = 633 nm; DZ = 0,4 s bis 1 s; SPS = 10 bis 20; OB = 10×; GT = 300 L mm⁻¹; LAS = 10 % bis 100 %). Das Referenzspektrum des Untergrundes ist am LMA gemessen worden (DZ = 60 s; GT = 1800 L mm⁻¹).

Das 2D-Diagramm zeigt eindeutig (Abbildung 80), dass das Signal von AD von den Signalen von Ru(bipy)₃ und SRB abgetrennt werden kann. Zudem ist das Maximum von AD zu einer kleineren Position von 11 mm verschoben. Diese Verschiebung ist auf die niedrigere Konzentration

ration zurück zu führen. Bei niedrigeren Konzentration eines Moleküls, welches stark an die Nanopartikel adsorbiert wird, wird aufgrund des Adsorptionsverhaltens das maximale SERS-Signal bei kleineren Positionen im Chromatogramm beobachtet, nämlich sobald ein Bereich mit hoher Affinität erreicht ist. Bei höheren Konzentrationen werden die maximalen SERS-Signale in den Bereichen mit hoher Affinität erst später erreicht (Abbildung 81 die fünf Chromatogramme). Der Grund dafür ist vermutlich die Belegung der Adsorptionsplätze auf den Nanopartikeln durch die affinen Moleküle. So werden bei niedrigeren Konzentrationen alle affinen Moleküle am Anfang des Nanopartikelbereiches adsorbiert. Steigt die Konzentration der Moleküle, werden immer noch ein Teil der Moleküle direkt am Anfang adsorbiert aber ein weiter Teil kann weiter fließen und wird dann nach und nach mit größer werdender Position auf den μ PADs adsorbiert, bis alle Moleküle adsorbiert sind. Daher ist für die Messung der Konzentrationsreihe von AD in der Mischung die Position 11 mm auf den μ PADs ausgewählt worden, um dort das Signal des Analyten bei verschiedenen Konzentrationen zu detektieren (Abbildung 81). Für die Messpunkte in Abbildung 81 sind je zwei μ PADs gemessen worden. Die Signale, die für die verschiedenen Konzentrationen von AD auf den μ PADs gemessen wurden, zeigen im Vergleich zu denselben Konzentrationen des Analyten auf Testpunkten nur eine Signalintensität von etwa 5 %. Dies liegt vor allem an den unterschiedlichen Präparationen von μ PADs und Testpunkten. So ist bei den μ PADs die Trockenzeit wesentlich länger als bei den Testpunkten und wie in Kapitel 4.2.2 beschrieben wurde, sinkt die Signalintensität mit längeren Trockenzeiten stark. Trotz der geringen Signalintensitäten können die Daten für eine Langmuir-Isotherme aufgenommen werden. Der Fit für diese Isotherme ist über alle gemessenen Datenpunkte berechnet worden, da nur sehr wenige Datenpunkte vorhanden sind. Als Adsorptionskonstante ergibt sich ein Wert von 67784 M^{-1} , was höher ist, als die gemessene Adsorptionskonstante auf den Testpunkten, jedoch in einer vergleichbaren Größenordnung. Dies kann aber an der geringen Anzahl an Datenpunkten und/oder der geringeren Signalintensität liegen. Somit können Aussagen über die Konzentration von Adenin in einer Mischung aus AD, $\text{Ru}(\text{bipy})_3$ und SRB gemacht werden.

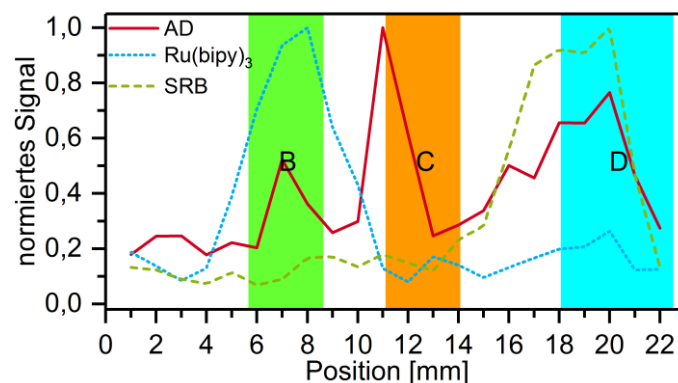


Abbildung 80 Chromatogramme von der Mischung III Abbildung 78. Aufgetragen sind die normierten Signalfächen der SERS-Banden (Normierung auf das höchste Signal eines jeden einzelnen Chromatogramm-Bereichs). Die Messdaten und Präparation können der Abbildung 79 entnommen werden. Die rote Linie ist AD im Bereich von 720 cm^{-1} bis 742 cm^{-1} , die blaue Linie ist Ru(bipy)_3 im Bereich von 1032 cm^{-1} bis 1053 cm^{-1} und die grüne Linie ist SRB im Bereich von 1640 cm^{-1} bis 1660 cm^{-1} .

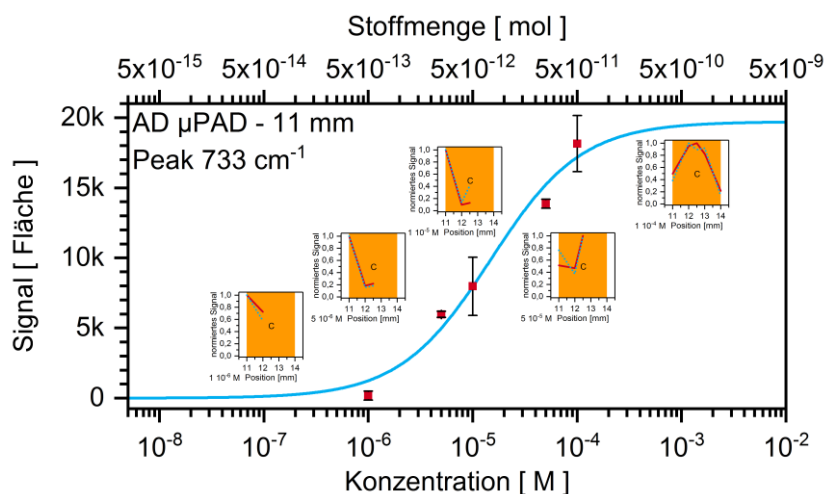


Abbildung 81 Messung der Konzentrationskurve von AD. Auftragung der AD-Konzentration gegen das SERS-Signal (Fläche) der Ringatemschwingung von AD bei 733 cm^{-1} . Bestimmt wurde die Fläche der SERS-Bande im Bereich von 720 cm^{-1} bis 745 cm^{-1} (LabVIEW-Analyseprogramm). Jeder Messpunkt ist der Mittelwert von zwei Einzelmessungen bei einer Position von 11 mm auf dem jeweiligen μPAD und der angegebene Fehler ist die maximale Abweichung vom Mittelwert. Die blaue Linie ist die angepasste Fit-Kurve. Messung von Ein-Zonen-beschichteten μPADs am LMA ($\text{DZ} = 60\text{ s}$; $\text{GT} = 1800\text{ L mm}^{-1}$) und präpariert nach der Standardmethode.

4.5.3 Freisetzungssysteme mit SERS-Messungen

Damit ein noch breiterer Bereich an Analyten gemessen werden kann, soll in einem ersten Testversuch die Kombination von Freisetzungssystemen mit SERS-Messungen untersucht werden. Als Analyten sollen dabei Pentaerythryltetranitrat (PETN) und 2,4,6-Trinitrotoluol (TNT) dienen. Als Freisetzungssysteme wurden mesoporöse Silicananopartikel mit Haptenen und Antikörpern als Verschlussmechanismus genutzt. Diese Nanomaterialien wurden hergestellt und charakterisiert von Estela Climent. Bei dem Silica-Nanomaterial für die Bestimmung von PETN kommt SRB als Detektionsmolekül zum Einsatz und bei dem für TNT kommt Ru(bipy)₃ zum Einsatz. SRB und Ru(bipy)₃ wurden auf negativen Silbernanopartikeln mit PBS Puffer (pH = 7,4) gemessen. Dabei zeigte sich, dass von SRB in der Gegenwart von PBS kein SERS-Signal detektiert werden konnte (Tabelle 17). Ein Vergleich mit den pH-Wert-SERS-Messungen der Literatur [101] zeigt, dass ein größerer pH-Wert als 7 zu einem sehr geringen Signal führt. Für Ru(bipy)₃ zeigt sich hingegen, dass ein gleich intensives (1487 cm⁻¹) oder intensiveres Signal (1041 cm⁻¹ & 1316 cm⁻¹) beobachtet wird (Tabelle 18). Der pH-Wert kann bei den Messungen nicht verändert werden, da er für die einwandfreie Funktion der Antikörper benötigt wird. Somit wurden nur für das TNT-Freisetzungssystem weitere Untersuchungen durchgeführt.

Tabelle 17 Messung von SRB ($c = 1 \cdot 10^{-5}$ M) und Lösungsmittel auf Testpunkten am LMA (DZ = 60 s; GT = 1800 L mm⁻¹) unter verschiedenen Bedingungen. Die Präparation der Testpunkte erfolgte nach der Standardmethode bei SRB und H₂O. Die Proben PBS oder H₂O plus SRB wurden genauso wie die anderen präpariert mit dem Unterschied, dass hier zuerst 0,5 µL H₂O oder PBS aufgetropft wurden und darauf gleich die 0,5 µL SRB-Lösung.

Probe	normierte Signalfläche von SRB 1279 cm ⁻¹ auf die Probe SRB [%]	normierte Signalfläche von SRB 1649 cm ⁻¹ auf die Probe SRB [%]
SRB	100	100
H ₂ O	10	7
H ₂ O + SRB	89	85
PBS + SRB	11	9

Tabelle 18 Messung von Ru(bipy)₃ ($c = 1 \cdot 10^{-5}$ M) und Lösungsmittel auf Testpunkten am LMA (DZ = 60 s; GT = 1800 L mm⁻¹). Die Präparation der Testpunkte erfolgte nach der Standardmethode mit dem Unterschied, dass hier zuerst 0,5 µL H₂O oder PBS aufgetropft wurden und darauf gleich die 0,5 µL Ru(bipy)₃-Lösung.

Probe	normierte Signalfläche von Ru(bipy) ₃ 1041 cm ⁻¹ auf die Probe H ₂ O + Ru(bipy) ₃ [%]	normierte Signalfläche von Ru(bipy) ₃ 1316 cm ⁻¹ auf die Probe H ₂ O + Ru(bipy) ₃ [%]	normierte Signalfläche von Ru(bipy) ₃ 1487 cm ⁻¹ auf die Probe H ₂ O + Ru(bipy) ₃ [%]
H ₂ O + Ru(bipy) ₃	100	100	100
PBS + Ru(bipy) ₃	163	142	103

Das Freisetzungssystem wurde auf Testpunkten und auf einem voll-beschichteten μ PAD gemessen. In Tabelle 19 sind die Messungen des Freisetzungssystems mit Analyt und zwei Proben ohne Analyt dargestellt, in einer ähnlichen Verdünnung wie sie auch bei den Fluoreszenzmessungen zum Einsatz gekommen sind. Bei allen drei Proben ist ein starkes Signal von Ru(bipy)₃ zu beobachten, aber die Signalintensitäten der beiden Messungen ohne Analyt haben ein um etwa 25 % geringeres Signal als die Messung mit TNT (Tabelle 19). Damit kann für die Bestimmung der Analyten-Konzentration der relative Signalunterschied zwischen Blank und Probe verwendet werden und es wird nicht unbedingt die absolute Signalintensität benötigt. Dies hätte den Vorteil, dass damit z.B. Fluktuationen aufgrund von unterschiedlichen Nanopartikelansätzen oder veränderter Luftfeuchtigkeit von verschiedenen Messtagen vernachlässigt werden könnten.

Tabelle 19 Messung von Freisetzungspartikeln (= Partikel) mit TNT ($c = 1$ ppm) oder Messung ohne Analyt (Blank, Lösungsmittel Partikel = PBS oder Lösungsmittel TNT = H₂O:Methanol mit 9:1 Volumenanteilen) auf Testpunkten am LMA (DZ = 60 s; GT = 1800 L mm⁻¹). Die Präparation der Testpunkte erfolgte nach der Standardmethode mit dem Unterschied, dass hier zuerst 0,5 μ L Partikel (in der präpartieren Konzentration verwendet \rightarrow Material in 66 μ L PBS) aufgetropft wurden und darauf gleich die 0,5 μ L Ru(bipy)₃-Lösung.

Probe	normierte Signalfläche von Ru(bipy) ₃ 1041 cm ⁻¹ auf die Probe Partikel + TNT [%]	normierte Signalfläche von Ru(bipy) ₃ 1316 cm ⁻¹ auf die Probe Partikel + TNT [%]	normierte Signalfläche von Ru(bipy) ₃ 1487 cm ⁻¹ auf die Probe Partikel + TNT [%]
Partikel + TNT	100	100	100
Partikel + PBS	77	77	76
Partikel + H ₂ O:Methanol	74	75	76

Nach den Messungen auf Testpunkten wurden die Freisetzungspartikel auf μ PADs getestet. Dabei musste festgestellt werden, dass es keinen signifikanten Unterschied zwischen den Messungen mit und ohne Analyt gibt. Das relative Signal, welches nach der Startbande gemessen wurde, hatte in beiden Fällen etwa die gleiche Fläche (Tabelle 20 Spalte 2). Somit

kann das Freisetzungssystem unter den so gewählten Bedingungen nicht für eine Analyse auf μ PADs verwendet werden. Ein Vergleich mit den Fluoreszenzdaten von einem „Lateral Flow Reader“ zeigt dasselbe Verhalten, sowohl Analyt als auch Blank geben das gleiche Signal. Somit müssen die Bedingungen für die Flusssysteme noch optimiert werden, um eine Analyse von TNT zu ermöglichen.

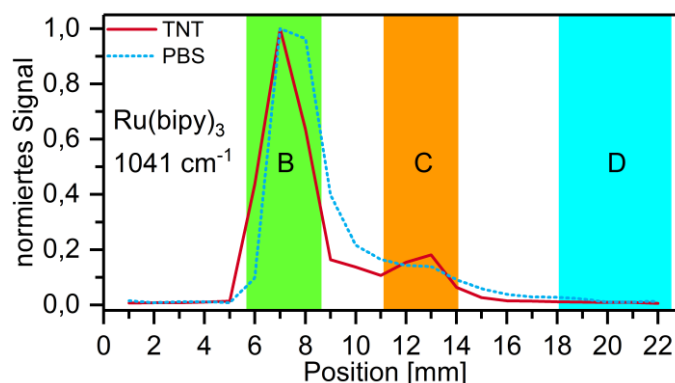


Abbildung 82 Chromatogramme von Partikeln mit TNT ($c = 1$ ppm) oder PBS. Die Messungen erfolgten auf voll -beschichteten μ PADs. Aufgetragen sind die normierten Signalflächen der SERS-Bande 1041 cm^{-1} des $\text{Ru}(\text{bipy})_3$ (Normierung auf das höchste Signal eines jeden einzelnen Chromatogramms im Messbereich 1032 cm^{-1} bis 1053 cm^{-1}). Messung und Präparation erfolgten nach der Präparation aus Kapitel 3.5 mit dem Unterschied, dass in der Zone B zuerst $0,5\text{ }\mu\text{L}$ Partikel und dann sofort $0,5\text{ }\mu\text{L}$ TNT oder PBS aufgetropft wurden und als Flussmittel PBS verwendet wurde.

Tabelle 20 Daten Vergleich aus SERS-Messungen mit Fluoreszenzmessungen der Partikel-Proben. Die Daten für die SERS-Messungen kommen aus Tabelle 19 & Abbildung 82 und die Daten für die Fluoreszenzmessungen stammen von einer Mitarbeiterin aus Lösungsmessungen und von „Lateral Flow Reader“-Messungen[137].

Probe	normierte Signalfläche von $\text{Ru}(\text{bipy})_3$ 1041 cm^{-1} auf die Probe Partikel + TNT [%]	normierte Signalfläche 11-22 mm von $\text{Ru}(\text{bipy})_3$ 1041 cm^{-1} auf Fläche 1-22 mm [%]	Fluoreszenzdaten in Lösung nach 5 min [%][137]	normierte Signalfläche 14-20 mm von $\text{Ru}(\text{bipy})_3$ Fluoreszenz auf Fläche 10-20 mm [%]
Partikel + TNT	100 (1 ppm)	22 (1 ppm)	100 (1 ppm)	19 (0,429 ppm)
Partikel + PBS	77	25	83	19

Eine Möglichkeit zur Verbesserung des Systems wäre die kombinierte Anwendung von positiven und negativen Nanopartikeln auf einem μ PAD. Unter den ansonsten gleichen Bedingungen wie in Abbildung 82 wurde dieser Versuch durchgeführt. Dabei konnte eine SERS-Bande im Bereich von 16 mm bis 21 mm beobachtet werden. Damit geht zwar die Möglichkeit verloren, die relativen Signale in einem Chromatogramm zu analysieren, aber es könnten immer noch die Signale zweier Chromatogramme (Analyt und Blank) verglichen werden, oder es werden direkt die absoluten Signale ausgewertet. Dies ist ein Ansatz der Verbesserung, aber bis zum Einsatz für die TNT-Analytik sind noch weitere Experimente nötig. Hier sollte nur ein erster Versuch unternommen werden, ob die Kopplung zwischen Freisetzungssystemen und SERS-Messungen prinzipiell möglich. Anhand der hier vorgestellten Untersuchungen kann festgehalten werden, dass eine Kopplung von Freisetzungssystemen mit SERS-Messungen möglich ist und die Ergebnisse denen der Fluoreszenzmessungen entsprechen. Somit können als Alternative zu Fluoreszenz-Messungen auch SERS-Messungen für die Analyse verwendet werden. Ein Vorteil davon ist, dass weitere Arten von Reportermolekülen für die Freisetzungssysteme zugänglich werden.

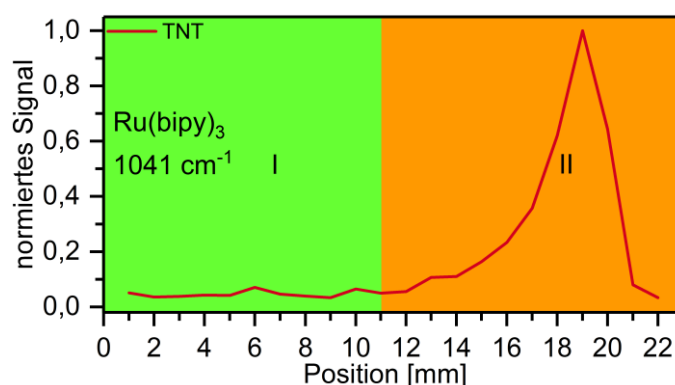


Abbildung 83 Chromatogramm von Partikeln mit TNT ($c = 1$ ppm). Die Messung erfolgte auf voll-beschichteten μ PADs. Aufgetragen sind die normierten Signalfächen der SERS-Bande 1041 cm^{-1} des $\text{Ru}(\text{bipy})_3$ (Normierung auf das höchste Signal eines jeden einzelnen Chromatogramms im Messbereich 1032 cm^{-1} bis 1053 cm^{-1}). Messung und Präparation erfolgten nach der Präparation aus Kapitel 3.5 mit dem Unterschied, dass in der Zone B zuerst $0,5\text{ }\mu\text{L}$ Partikel und dann sofort $0,5\text{ }\mu\text{L}$ TNT aufgetropft wurden und als Flussmittel PBS verwendet wurde. Bis Zone C wurden positive Nanopartikel und ab einschließlich Zone C negative Nanopartikel aufgetragen.

5 Zusammenfassung & Ausblick

Das erste Ziel dieser Arbeit war es, zu untersuchen, welche Bedingungen für reproduzierbare SERS-Messungen erfüllt sein müssen und in welchem Bereich überhaupt reproduzierbare SERS-Messungen möglich sind. Zu diesem Zweck sind verschiedene Auftragungsmethoden und Messsysteme getestet worden.

Als Ergebnis dieser Versuche zeigte sich, dass eine Kombination aus homogenem Aufsprühen (Airbrush-Methode) von Nanopartikelsuspension auf Papier und ein großer Laser- und Detektionspunkt auf der Probe zu stabileren SERS-Signalen führt. Einen solch großen Laser- und Detektionspunkt ist z.B. bei dem RamanRxn1 mit dem PhAT-Probenmesskopf ($d = 6 \text{ mm}$) vorhanden. Hingegen kann mit einem kleinen und gut höhenfokussierten Laser- und Detektionspunkt, wie er z.B. bei einem Raman-Mikroskop vorhanden ist, die Oberflächenstruktur analysiert werden. Ausgehend von diesen Erkenntnissen ist ein Labormessaufbau mit einem großen Laser- und Detektionspunkt von ca. $1,3 \text{ mm}$ im Durchmesser aufgebaut worden, an welchem die Papiersysteme vermessen wurden.

Neben dem Aufsprühen wurden Proben auf Papieren mit hydrophoben Barrieren in Form von Testpunkten und μ PADs hergestellt. Dabei wurde die Nanopartikelsuspension mit einer Pipette direkt in die hydrophilen Bereiche (das Innere) der Testpunkte oder μ PADs getropft. Die Vorteile dieser Methode sind, dass in kurzer Zeit eine große Anzahl an Proben hergestellt werden können und bis auf den Wachsdruker, der im Vergleich zu anderen Methoden wie z.B. CVD oder Lithographie recht günstig ist, keine speziellen Geräte benötigt werden. Zudem ist es durch die Herstellung der hydrophoben Barrieren mit dem Wachsdruker sehr einfach und schnell möglich, die Strukturen auf den Papieren zu verändern, was dem Entwicklungsprozess zugutekommt.

Mit dem Labormessaufbau und den Testpunkten wurden Experimente zu Einflussfaktoren auf die SERS-Messungen und Messungen zur Reproduzierbarkeit durchgeführt. Als Beispiel für die Einflussfaktoren seien hier die Trockenzeit und das Nanopartikelmaterial erwähnt. Je länger die Trockenzeit war, umso geringer wurde auch das SERS-Signal bei den hier verwendeten Nanopartikeln, was auf eine Deaktivierung des Nanomaterials zurückzuführen ist. Der Vergleich der hier verwendeten Gold- und Silber-Nanopartikel zeigte, dass die Goldnanopartikel immer ein schwächeres Signal als die Silbernanopartikel aufwiesen, was auf das Material zurückgeführt wird. Um einen Überblick über alle Einflussfaktoren zu bekommen, die hier

und in der Literatur gefunden wurden, wurde eine Übersicht in Abbildung 84 zusammengestellt. Die Einflussfaktoren wurden dabei in die Faktoren Nanopartikel, Präparation, Messung und Analyten unterteilt. Da sich die Faktoren gegenseitig beeinflussen, ist es nicht leicht, die optimalen Bedingungen für eine Probe zu finden. Damit wird aus Abbildung 84 auch deutlich, dass für jedes SERS-System die Parameter für eine optimale SERS-Signalintensität individuell angepasst werden müssen. Zudem erklärt es, warum die hier entwickelten SERS-Teststeifen nur für den Laboreinsatz geeignet sind und nicht für Schnelltests im Feldversuch. Dennoch ist es möglich, für verschiedene Analyten wie z.B. AD, Ru(bipy)_3 und SRB stabile Messungen über einen Zeitraum von ca. 2,5 Monaten mit einer relativen Standardabweichung von ca. 20 % zu realisieren.

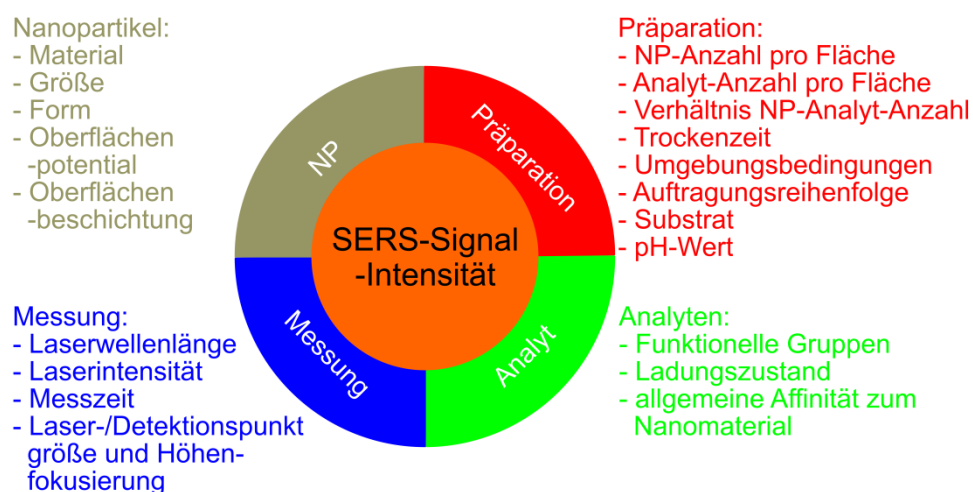


Abbildung 84 Übersicht über alle in dieser Arbeit und aus der Literatur bekannten Einflussfaktoren auf das SERS-Signal bei SERS-Messungen.

Das zweite Ziel war, zu untersuchen, wie sich die gewonnenen Konzentrationsdaten am besten fitten und erklären lassen. Dazu wurden eine große Anzahl an Messungen mit einfachen Silbernanopartikeln auf Testpunkten und verschiedenen Analyten am Labormessaufbau durchgeführt. Die dabei gewonnenen SERS-Messdaten wurden mit verschiedenen Adsorptionsmodellen analysiert. Das Ergebnis dieser Auswertungen ist, dass das Langmuir-SERS-Modell zumeist eine gute Übereinstimmung der SERS-Messdaten mit der Fitfunktion zeigt. Zudem lässt sich mit dem Langmuir-SERS-Modell das Verhalten der verschiedenen Analyten bei den SERS-Messungen gut erklären. Für weiterführende Untersuchungen in diesem Zusammenhang sollte aber auch die Hill-Isotherme nicht vernachlässigt werden, sie zeigte eine etwas bessere Übereinstimmung der Fitfunktion mit den Messdaten, hat aber auch einen Freiheitsgrad mehr als das Langmuir-SERS-Modell.

Für Thiole kann zudem noch eine Alternative zu den SERS-Intensitätsmessungen für die Konzentrationsbestimmung genutzt werden. Bei ihnen ist es möglich, über die Verschiebung der SERS-Bandenposition Aussagen zur Konzentration zu machen und dies gilt nach vorläufigen Erkenntnissen für alle Thiole, die über eine freie Thio-Gruppe verfügen.

Das dritte Ziel dieser Arbeit war die Analyse von realistischen Proben mit Papier-basierten Systemen mit SERS-Detektion. Dazu wurde die Kombination und Untersuchung von SERS-Messungen mit μ PAD-Strukturen genutzt. Hier konnten die Erkenntnisse aus den Adsorptionskonstanten gut für die Interpretation der Chromatogramme genutzt werden. Diese zeigten, dass Adenin durch die Beschichtung der μ PADs mit Nanopartikeln für die SERS-Messungen stark im Laufverhalten beeinflusst wird. So wird AD sobald es auf die negativen Silbernanopartikel trifft zum größten Teil adsorbiert. Ein ähnliches Verhalten zeigt SRB bei den positiven Silbernanopartikeln, bloß dass der Effekt nicht ganz so stark ist. Somit ist es möglich z.B. AD in einer Mischung aus SRB und $\text{Ru}(\text{bipy})_3$ auf μ PADs zu analysieren.

Um noch mehr Analyten durch SERS-Messungen analysieren zu können, wurde die erste Kombination von Freisetzungssystemen mit SERS-Messungen realisiert. Die Messungen auf Testpunkten zeigen, dass es möglich ist, eine nicht SERS aktive Verbindung zu detektieren. Diese Kombination bedarf aber noch weiterer Optimierung, bevor sie für die Detektion und Quantifizierung mit SERS-Messungen eingesetzt werden kann.

Abschließend kann festgehalten werden, dass es möglich ist, in einem gewissen Fehler- und Zeit-Bereich reproduzierbare SERS-Messungen zu realisieren. Dieses erfordert jedoch nicht nur definierte SERS-Substrate, sondern auch definierte Umgebungsbedingungen, womit diese Methode in erster Line für den Laboreinsatz geeignet ist. Damit sind dann aber Identifikations- und Quantifizierungsexperimente möglich, wenn das SERS-System auf den jeweiligen Analyten angepasst ist. Ausgewertet werden können die Messdaten über das Langmuir-SERS-Modell und unter Zuhilfenahme von μ PADs können sogar Mischungen von Verbindungen analysiert werden.

Für die Zukunft sollte die Kombination aus μ PADs und SERS-Messungen bei realen Proben ausprobiert und für diese optimiert werden. In diesem Zusammenhang kann auch die Kombination von Freisetzungssystemen und SERS-Messungen noch weiter untersucht werden, damit noch eine größere Anzahl an Analyten für die SERS-Messungen zugänglich werden. Zu-

dem sollte getestet werden, ob die erhältlichen Raman-Handgeräte zur Messung von Testpunkten und μ PADs geeignet sind.

6 Anhang

6.1 Abkürzungen

% ^V	Volumenprozent
δ	Biegeschwingung
ν	Streckschwingung
Ag	Silber (lateinisch: argentum)
AKD	Alkyl ketendimere
Au	Gold (lateinisch: aurum)
BET	B runauer, E mmett und T eller (Isotherme)
CE	chemischer (englisch: chemical)
CVD	chemische Gasphasenabscheidung (englisch: chemical vapour de position)
DNA	Desoxyribonukleinsäure (englisch: deoxyribonucleic acid)
DZ	D etektionszeit
EF	Verstärkungsfaktor (englisch: enhancement factor)
EM	elektromagnetischer (englisch: electromagnetic)
GK	G ate k eeper (englisch: gatekeeper = Torwart)
GT	G itter
kon.	k onzentriert
LMA	L abormess a ufbau
LL	L aser l eistung
LP	L aserpunkt auf P robe
LWL	L aser w ellen l änge
MSQ	M ethyl s il s es q uioxan
NA	n umerische A pertur
NP	N anopartikel
OB	O bjektiv
PDMS	P oly d imethylsiloxan
PP	P apier
pH	Stärke des Wasserstoffs (lateinisch: p olentia h ydrogenii)
Ref.	Referenz
RH	Luftfeuchtigkeit (englisch: relative humidity)
RSD	Relative Standardabweichung (englisch: relative standard de viation)
RU	relative Unsicherheit (englisch: relative un certainty)

SE	Sekundärelektronen (englisch: s econdary e lectrons = SE)
SEM	Rasterelektronenmikroskop (englische: s canning e lectron m icroscope)
SERS	Oberflächenverstärkte Raman Streuung (englisch: s urface- e nhanced R aman s cattering)
SMPS	Silikat mesoporöse Nanopartikel Träger (englisch: s ilica m esoporous n anopar- t icles s upport)
SP	S topper
SPM	S pektren M ittelung
SPS	S pektren S ummation
SU	S timulus
TEM	T ransmissionselektronen m ikroskopie (englisch: t ransmission electron m icroscopy)
TT	T ransportteilchen
VdWK	V an- d er- W aals- K räfte
V _M	m olekularen V olumens
μPAD	Papierbasierte Mikrofluidik-Analysesysteme (englisch: m icrofluidic p aper-based a nalytical d evice)

6.2 LabVIEW wichtige Blockdiagramme

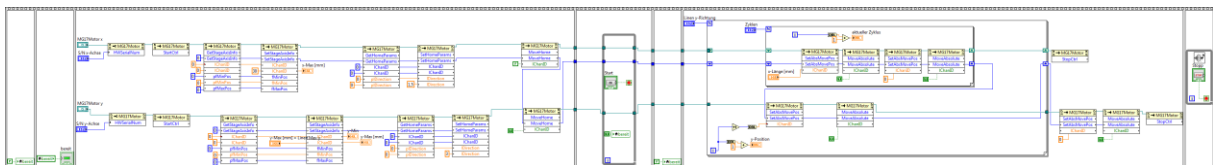


Abbildung 85 Blockdiagramm vom Verschiebebühne-Steuerungstool Version 0.1 für LabVIEW 2013.

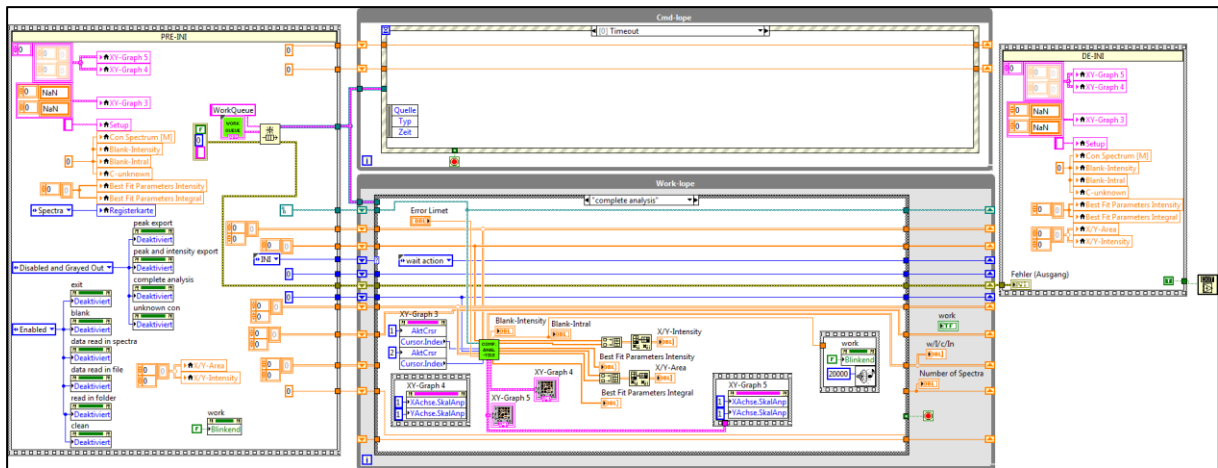


Abbildung 86 Hauptblockdiagramm vom LabVIEW-Analyseprogramm Version 60d für LabVIEW 2014.

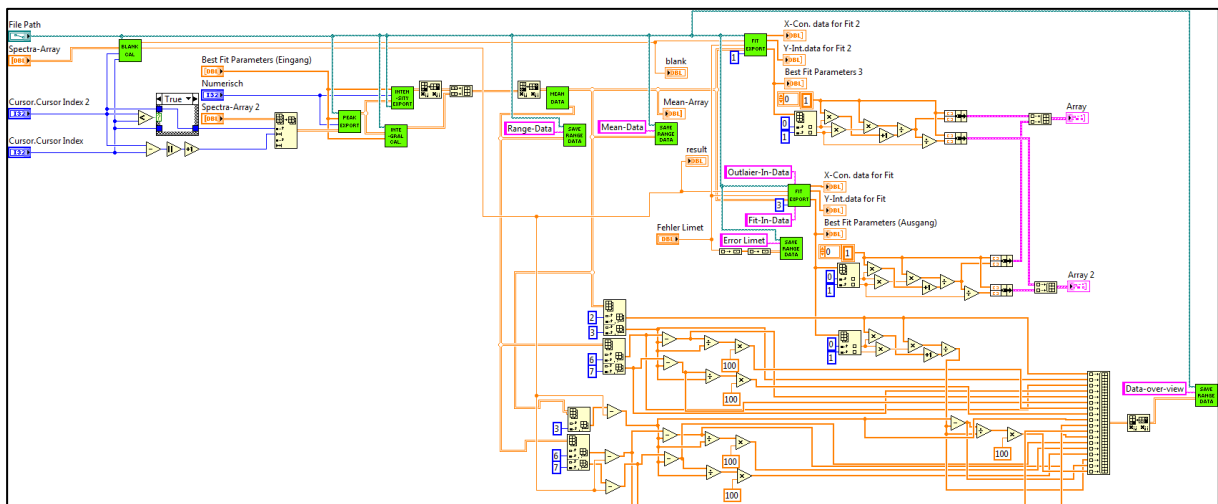


Abbildung 87 Blockdiagramm von der Fit-Berechnung Version 10d für LabVIEW 2014.

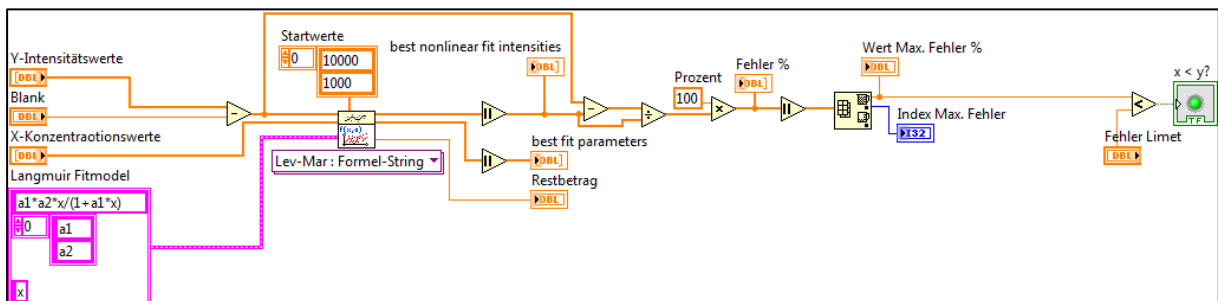


Abbildung 88 Blockdiagramm vom Fit der Langmuir-Isotherme Version 2d für LabVIEW 2014.

6.3 Selbsterstellungserklärung

Ich erkläre, dass ich die Dissertation selbständig und nur unter Verwendung der von mir gemäß § 7 Abs. 3 der Promotionsordnung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät, veröffentlicht im Amtlichen Mitteilungsblatt der Humboldt-Universität zu Berlin Nr. 17/2012 am 27.06.2012 angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe.

Ort/ Datum/ Unterschrift

7 Literaturverzeichnis

1. Hu, J., et al., *Advances in paper-based point-of-care diagnostics*. Biosensors and Bioelectronics, 2014. **54**: p. 585-597.
2. Li, X., D.R. Ballerini, and W. Shen, *A perspective on paper-based microfluidics: Current status and future trends*. Biomicrofluidics, 2012. **6**(1): p. 011301.
3. Yamada, K., et al., *Paper-based inkjet-printed microfluidic analytical devices*. Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 2015. **54**(18): p. 5294-310.
4. Stiles, P.L., et al., *Surface-enhanced Raman spectroscopy*. Annu. Rev. Anal. Chem., 2008. **1**(1): p. 601-26.
5. Kneipp, K., et al., *Single Molecule Detection Using Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS)*. Physical Review Letters, 1997. **78**(9): p. 1667-1670.
6. Nie, S. and S.R. Emory, *Probing Single Molecules and Single Nanoparticles by Surface-Enhanced Raman Scattering*. Science, 1997. **275**(5303): p. 1102-6.
7. Smekal, A., *Zur Quantentheorie der Dispersion*. Die Naturwissenschaften, 1923. **11**(43): p. 873-875.
8. Raman, C.V., *A change of wave-length in light scattering*. Nature, 1928. **121**(3051): p. 619-619.
9. Raman, C.V. and K.S. Krishnan, *The negative absorption of radiation*. Nature, 1928. **122**: p. 12-13.
10. Mandelstam, L. and G. Landsberg, *Eine neue Erscheinung bei der Lichtzerstreuung in Krystallen*. Die Naturwissenschaften, 1928. **16**(28): p. 557-558.
11. McCreery, R.L., *Raman Spectroscopy for Chemical Analysis*. Vol. 157. 2000, Kanada: Wiley-Interscience. 1-5, 15-33.
12. Bernath, P.F., *Spectra of Atoms and Molecules*, ed. S. Edition. 2005, New York: Oxford University Press. 208-232/ 293-320.
13. Baia, M., S. Astilean, and T. Iliescu, *Raman and SERS Investigations of Pharmaceuticals*. Vol. 1. 2008, Heidelberg: Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 17.
14. Atkins, P.W., *Physikalische Chemie*. 1990, Weinheim 1987: VCH Verlagsgesellschaft. 332-336, 466-468, 789-802.
15. Fleischmann, M., P.J. Hendra, and A.J. McQuillan, *Raman-Spectra of Pyridine Adsorbed at a Silver Electrode*. Chemical Physics Letters, 1974. **26**(2): p. 163-166.
16. Jeanmaire, D.L. and R.P. Van Duyne, *Surface raman spectroelectrochemistry*. J. Electroanal. Chem., 1977. **84**(1): p. 1-20.

17. Albrecht, M.G. and J.A. Creighton, *Anomalous Intense Raman-Spectra of Pyridine at a Silver Electrode*. Journal of the American Chemical Society, 1977. **99**(15): p. 5215-5217.
18. Kneipp, K., et al., *Ultrasensitive Chemical Analysis by Raman Spectroscopy*. Chemical Reviews, 1999. **99**(10): p. 2957-2976.
19. Schlücker, S., *Surface-Enhanced Raman Spectroscopy: Concepts and Chemical Applications*. Angewandte Chemie International Edition, 2014. **53**(19): p. 4756-4795.
20. Schatz, G.C. and R.P. Van Duyne, *Electromagnetic Mechanism of Surface-Enhanced Spectroscopy*, in *Handbook of Vibrational Spectroscopy*, J.M. Chalmers and P.R. Griffiths, Editors. 2002, John Wiley & Sons, Ltd: New York. p. 759-774.
21. Kelly, K.L., et al., *The Optical Properties of Metal Nanoparticles: The Influence of Size, Shape, and Dielectric Environment*. The Journal of Physical Chemistry B, 2003. **107**(3): p. 668-677.
22. Willets, K.A. and R.P.V. Duyne, *Localized Surface Plasmon Resonance Spectroscopy and Sensing*. Annual Review of Physical Chemistry, 2007. **58**(1): p. 267-297.
23. Kneipp, J., H. Kneipp, and K. Kneipp, *SERS-a single-molecule and nanoscale tool for bioanalytics*. Chemical Society Reviews, 2008. **37**(5): p. 1052-1060.
24. Campion, A. and P. Kambhampati, *Surface-enhanced Raman scattering*. Chemical Society Reviews, 1998. **27**(4): p. 241-250.
25. Le Ru, E.C. and P.G. Etchegoin, *Principles of Surface-Enhanced Raman Spectroscopy*. 2009, Amsterdam: Elsevier. 258-263.
26. Hagiopol, C. and J.W. Johnston, *Chemistry of modern papermaking*. 2011, Broken: CRC Press.
27. Ergun, R., J. Guo, and B. Huebner-Keese, *Cellulose*, in *Encyclopedia of Food and Health*. 2016, Academic Press: Oxford. p. 694-702.
28. *Filtration and Separation Technology*. Munktell & Filtrak GmbH. p. 43,55,76,77.
29. Runge, F.F., *Der Bildungstrieb der Stoffe : veranschaulicht in selbstständig gewachsenen Bildern (Fortsetzung der Musterbilder)*. 1855, Oranienburg (Germany): Self-published.
30. Tswett, M.S., *Physikalisch-chemische Studien über das Chlorophyll. Die Adsorptionen*. Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft, 1906. **24**(6): p. 316-323.
31. Kaltenböck, K., *Chromatographie für Einsteiger / Karl Kaltenböck*. 1. Aufl. ed. 2008, Weinheim: Weinheim : Wiley-VCH-Verl.
32. Müller, R.H. and D.L. Clegg, *Automatic Paper Chromatography*. Analytical Chemistry, 1949. **21**(9): p. 1123-1125.
33. Martinez, A.W., et al., *Patterned paper as a platform for inexpensive, low-volume, portable bioassays*. Angewandte Chemie-International Edition, 2007. **46**(8): p. 1318-1320.

34. Lisowski, P. and P.K. Zarzycki, *Microfluidic Paper-Based Analytical Devices (mu PADs) and Micro Total Analysis Systems (mu TAS): Development, Applications and Future Trends*. Chromatographia, 2013. **76**(19-20): p. 1201-1214.
35. Mohammadi, S., et al., *An instrument-free, screen-printed paper microfluidic device that enables bio and chemical sensing*. Analyst, 2015. **140**(19): p. 6493-6499.
36. Rajendra, V., et al., *Printing silicone-based hydrophobic barriers on paper for microfluidic assays using low-cost ink jet printers*. Analyst, 2014. **139**(24): p. 6361-6365.
37. Wang, J., et al., *Hydrophobic sol-gel channel patterning strategies for paper-based microfluidics*. Lab on a Chip, 2014. **14**(4): p. 691-695.
38. Lu, Y., et al., *Rapid prototyping of paper-based microfluidics with wax for low-cost, portable bioassay*. Electrophoresis, 2009. **30**(9): p. 1497-500.
39. Karita, S. and T. Kaneta, *Acid–Base Titrations Using Microfluidic Paper-Based Analytical Devices*. Analytical Chemistry, 2014. **86**(24): p. 12108-12114.
40. Cate, D.M., et al., *Multiplexed paper analytical device for quantification of metals using distance-based detection*. Lab on a Chip, 2015. **15**(13): p. 2808-2818.
41. Delaney, J.L., et al., *Electrogenerated Chemiluminescence Detection in Paper-Based Microfluidic Sensors*. Analytical Chemistry, 2011. **83**(4): p. 1300-1306.
42. Yamada, K., et al., *An antibody-free microfluidic paper-based analytical device for the determination of tear fluid lactoferrin by fluorescence sensitization of Tb³⁺*. Analyst, 2014. **139**(7): p. 1637-1643.
43. Nie, Z., et al., *Integration of paper-based microfluidic devices with commercial electrochemical readers*. Lab on a Chip, 2010. **10**(22): p. 3163-3169.
44. Ansar, S.M., et al., *Dispersion Stability, Ligand Structure and Conformation, and SERS Activities of 1-Alkanethiol Functionalized Gold and Silver Nanoparticles*. Journal of Physical Chemistry C, 2014. **118**(43): p. 24925-24934.
45. Tripathi, A., et al., *Kinetics and Reaction Mechanisms of Thiophenol Adsorption on Gold Studied by Surface-Enhanced Raman Spectroscopy*. The Journal of Physical Chemistry C, 2013. **117**(44): p. 22834-22842.
46. Sharma, B., et al., *SERS: Materials, applications, and the future*. Materials Today, 2012. **15**(1–2): p. 16-25.
47. Betz, J.F., et al., *Simple SERS substrates: powerful, portable, and full of potential*. Phys. Chem. Chem. Phys., 2014. **16**(6): p. 2224-2239.
48. Zheng, J.K. and L.L. He, *Surface-Enhanced Raman Spectroscopy for the Chemical Analysis of Food*. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2014. **13**(3): p. 317-328.
49. Mosier-Boss, P., *Review of SERS Substrates for Chemical Sensing*. Nanomaterials, 2017. **7**(6): p. 142.

50. Lee, P.C. and D. Meisel, *Adsorption and surface-enhanced Raman of dyes on silver and gold sols*. The Journal of Physical Chemistry, 1982. **86**(17): p. 3391-3395.
51. Zeng, J., S. Roberts, and Y. Xia, *Nanocrystal-Based Time–Temperature Indicators*. Chemistry – A European Journal, 2010. **16**(42): p. 12559-12563.
52. Zeng, J., et al., *Successive deposition of silver on silver nanoplates: lateral versus vertical growth*. Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 2011. **50**(1): p. 244-9.
53. Xia, X., et al., *Recent Developments in Shape-Controlled Synthesis of Silver Nanocrystals*. The Journal of Physical Chemistry C, 2012. **116**(41): p. 21647-21656.
54. Tang, X.H., et al., *Fabrication of Au nanorod-coated Fe₃O₄ microspheres as SERS substrate for pesticide analysis by near-infrared excitation*. Journal of Raman Spectroscopy, 2015. **46**(5): p. 470-475.
55. Minati, L., et al., *One-step synthesis of star-shaped gold nanoparticles*. Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects, 2014. **441**: p. 623-628.
56. Fales, A.M., H. Yuan, and T. Vo-Dinh, *Development of Hybrid Silver-Coated Gold Nanostars for Nonaggregated Surface-Enhanced Raman Scattering*. The Journal of Physical Chemistry C, 2014. **118**(7): p. 3708-3715.
57. Leopold, N. and B. Lendl, *A new method for fast preparation of highly surface-enhanced Raman scattering (SERS) active silver colloids at room temperature by reduction of silver nitrate with hydroxylamine hydrochloride*. Journal of Physical Chemistry B, 2003. **107**(24): p. 5723-5727.
58. Xia, X., et al., *Silver Nanocrystals with Concave Surfaces and Their Optical and Surface-Enhanced Raman Scattering Properties*. Angewandte Chemie International Edition, 2011. **50**(52): p. 12542-12546.
59. Frens, G., *Controlled Nucleation for the Regulation of the Particle Size in Monodisperse Gold Suspensions*. Nature Physical Science, 1973. **241**(105): p. 20-22.
60. Izquierdo-Lorenzo, I., et al., *Adsorption and Detection of Sport Doping Drugs on Metallic Plasmonic Nanoparticles of Different Morphology*. Langmuir, 2012. **28**(24): p. 8891-8901.
61. Peksa, V., et al., *Quantitative SERS analysis of azorubine (E 122) in sweet drinks*. Anal. Chem., 2015. **87**(5): p. 2840-4.
62. Zhao, Y., et al., *A facile method for the synthesis of large-size Ag nanoparticles as efficient SERS substrates*. Journal of Raman Spectroscopy, 2016. **47**(6): p. 662-667.
63. Potara, M., et al., *Chitosan-coated anisotropic silver nanoparticles as a SERS substrate for single-molecule detection*. Nanotechnology, 2012. **23**(5): p. 055501.
64. Yu, W.W. and I.M. White, *A simple filter-based approach to surface enhanced Raman spectroscopy for trace chemical detection*. Analyst, 2012. **137**(5): p. 1168-73.

65. Gu, H.X., et al., *A portable microcolumn based on silver nanoparticle functionalized glass fibers and its SERS application*. Analyst, 2015. **140**(23): p. 7934-8.
66. Lee, W.W., et al., *Preaggregated Ag nanoparticles in dry swellable gel films for off-the-shelf surface-enhanced Raman spectroscopy*. Anal. Chem., 2014. **86**(16): p. 8106-13.
67. Ngo, Y.H., et al., *Gold nanoparticle-paper as a three-dimensional surface enhanced Raman scattering substrate*. Langmuir, 2012. **28**(23): p. 8782-90.
68. Oliveira, M.J., et al., *Office paper decorated with silver nanostars - an alternative cost effective platform for trace analyte detection by SERS*. Sci Rep, 2017. **7**(1): p. 2480.
69. Polavarapu, L., et al., *Pen-on-Paper Approach Toward the Design of Universal Surface Enhanced Raman Scattering Substrates*. Small, 2014. **10**(15): p. 3065-3071.
70. Yu, W.W. and I.M. White, *Inkjet printed surface enhanced Raman spectroscopy array on cellulose paper*. Anal. Chem., 2010. **82**(23): p. 9626-30.
71. Li, B., et al., *A fast and low-cost spray method for prototyping and depositing surface-enhanced Raman scattering arrays on microfluidic paper based device*. Electrophoresis, 2013. **34**(15): p. 2162-8.
72. Fierro-Mercado, P., B. Renteria-Beleno, and S.P. Hernandez-Rivera, *Preparation of SERS-active substrates using thermal inkjet technology*. Chemical Physics Letters, 2012. **552**(0): p. 108-113.
73. Fierro-Mercado, P.M. and S.P. Hernández-Rivera, *Highly Sensitive Filter Paper Substrate for SERS Trace Explosives Detection*. International Journal of Spectroscopy, 2012. **2012**: p. 1-7.
74. Qu, L.L., et al., *Batch fabrication of disposable screen printed SERS arrays*. Lab on a Chip, 2012. **12**(5): p. 876-81.
75. Hoppmann, E.P., W.W. Yu, and I.M. White, *Highly sensitive and flexible inkjet printed SERS sensors on paper*. Methods, 2013. **63**(3): p. 219-224.
76. Yu, W.W. and I.M. White, *Chromatographic separation and detection of target analytes from complex samples using inkjet printed SERS substrates*. Analyst, 2013. **138**(13): p. 3679-86.
77. Yu, W.W. and I.M. White, *Inkjet-printed paper-based SERS dipsticks and swabs for trace chemical detection*. Analyst, 2013. **138**(4): p. 1020-5.
78. Wang, J., et al., *Inkjet-printed silver nanoparticle paper detects airborne species from crystalline explosives and their ultratrace residues in open environment*. Anal. Chem., 2014. **86**(7): p. 3338-45.
79. Yorov, K.E., et al., *Inkjet printing of silver rainbow colloids for SERS chips with polychromatic sensitivity*. RSC Advances, 2016. **6**(19): p. 15535-15540.
80. Qu, L.-L., et al., *Fabrication of bimetallic microfluidic surface-enhanced Raman scattering sensors on paper by screen printing*. Analytica Chimica Acta, 2013. **792**: p. 86-92.
81. Osorio-Roman, I.O., et al., *Plasmon enhanced fluorescence with aggregated shell-isolated nanoparticles*. Anal. Chem., 2014. **86**(20): p. 10246-51.

82. Brayner, R., et al., *Surface-Enhanced Raman Scattering on Silver Nanostructured Films Prepared by Spray-Deposition*. Langmuir, 2010. **26**(22): p. 17465-17469.
83. Yao, H.-B., et al., *Gold Nanoparticle Functionalized Artificial Nacre: Facile in Situ Growth of Nanoparticles on Montmorillonite Nanosheets, Self-Assembly, and Their Multiple Properties*. ACS Nano, 2012. **6**(9): p. 8250-8260.
84. Fang, H., et al., *Ultrasensitive and quantitative detection of paraquat on fruits skins via surface-enhanced Raman spectroscopy*. Sensors and Actuators B: Chemical, 2015. **213**: p. 452-456.
85. Soares, F.L.F., J.A. Ardila, and R.L. Carneiro, *Thin-layer chromatography–surface-enhanced Raman spectroscopy and chemometric tools applied to Pilsner beer fingerprint analysis*. Journal of Raman Spectroscopy, 2017. **48**(7): p. 943-950.
86. Kim, W., et al., *Facile Fabrication of a Silver Nanoparticle Immersed, Surface-Enhanced Raman Scattering Imposed Paper Platform through Successive Ionic Layer Absorption and Reaction for On-Site Bioassays*. ACS Applied Materials & Interfaces, 2015. **7**(50): p. 27910-27917.
87. Kim, W., et al., *Instrument-Free Synthesizable Fabrication of Label-Free Optical Biosensing Paper Strips for the Early Detection of Infectious Keratoconjunctivitis*. Anal. Chem., 2016. **88**(10): p. 5531-7.
88. Lee, J.-C., W. Kim, and S. Choi, *Fabrication of a SERS-encoded microfluidic paper-based analytical chip for the point-of-assay of wastewater*. International Journal of Precision Engineering and Manufacturing-Green Technology, 2017. **4**(2): p. 221-226.
89. Zhu, Y., et al., *A novel paper rag as 'D-SERS' substrate for detection of pesticide residues at various peels*. Talanta, 2014. **128**(0): p. 117-24.
90. Nie, B., et al., *Chromatographic paper embedded with silver nanostructure as a disposable substrate for surface-enhanced Raman spectroscopy and catalytic reactor*. Journal of Raman Spectroscopy, 2015. **46**(2): p. 211-216.
91. Berthod, A., J.J. Laserna, and J.D. Winefordner, *Analysis by surface enhanced Raman spectroscopy on silver hydrosols and silver coated filter papers*. J. Pharm. Biomed. Anal., 1988. **6**(6-8): p. 599-608.
92. He, L.L., et al., *Surface-enhanced Raman spectroscopy coupled with dendritic silver nanosubstrate for detection of restricted antibiotics*. Journal of Raman Spectroscopy, 2010. **41**(7): p. 739-744.
93. Jung, H., et al., *Silver nanoislands on cellulose fibers for chromatographic separation and ultrasensitive detection of small molecules*. Light. Sci. Appl., 2016. **5**(1): p. e16009.
94. Park, M., et al., *Plasmonic Schirmer Strip for Human Tear-Based Gouty Arthritis Diagnosis Using Surface-Enhanced Raman Scattering*. ACS Nano, 2017. **11**(1): p. 438-443.
95. Kahl, M., et al., *Periodically structured metallic substrates for SERS*. Sensors and Actuators B: Chemical, 1998. **51**(1-3): p. 285-291.
96. Hulteen, J.C. and R.P. Vanduyne, *Nanosphere Lithography - a Materials General Fabrication Process for Periodic Particle Array Surfaces*. Journal of

- Vacuum Science & Technology a-Vacuum Surfaces and Films, 1995. **13**(3): p. 1553-1558.
97. Johnson, R.P., et al., *SERS from two-tier sphere segment void substrates*. Phys. Chem. Chem. Phys., 2011. **13**(37): p. 16661-5.
 98. Izquierdo-Lorenzo, I., S. Sanchez-Cortes, and J.V. Garcia-Ramos, *Adsorption of Beta-Adrenergic Agonists Used in Sport Doping on Metal Nanoparticles: A Detection Study Based on Surface-Enhanced Raman Scattering*. Langmuir, 2010. **26**(18): p. 14663-14670.
 99. Izquierdo-Lorenzo, I., S. Sanchez-Cortes, and J.V. Garcia-Ramos, *Trace detection of aminogluthethimide drug by surface-enhanced Raman spectroscopy: a vibrational and adsorption study on gold nanoparticles*. Analytical Methods, 2011. **3**(7): p. 1540-1545.
 100. Izquierdo-Lorenzo, I., J.V. García-Ramos, and S. Sanchez-Cortes, *Vibrational characterization and surface-enhanced Raman scattering detection of probenecid doping drug*. Journal of Raman Spectroscopy, 2013. **44**(10): p. 1422-1427.
 101. Kim, K., J.W. Lee, and K.S. Shin, *Polyethylenimine-Capped Ag Nanoparticle Film as a Platform for Detecting Charged Dye Molecules by Surface-Enhanced Raman Scattering and Metal-Enhanced Fluorescence*. ACS Applied Materials & Interfaces, 2012. **4**(10): p. 5498-5504.
 102. Wang, H., C.S. Levin, and N.J. Halas, *Nanosphere Arrays with Controlled Sub-10-nm Gaps as Surface-Enhanced Raman Spectroscopy Substrates*. Journal of the American Chemical Society, 2005. **127**(43): p. 14992-14993.
 103. Hildebrandt, P. and M. Stockburger, *Surface-enhanced resonance Raman spectroscopy of Rhodamine 6G adsorbed on colloidal silver*. The Journal of Physical Chemistry, 1984. **88**(24): p. 5935-5944.
 104. Castillo, J.J., et al., *Silver-capped silicon nanopillar platforms for adsorption studies of folic acid using surface enhanced Raman spectroscopy and density functional theory*. Journal of Raman Spectroscopy, 2015. **46**(11): p. 1087-1094.
 105. Tripathi, A., et al., *Critical role of adsorption equilibria on the determination of surface-enhanced Raman enhancement*. ACS Nano, 2015. **9**(1): p. 584-593.
 106. Mamián-López, M.B. and R.J. Poppi, *Standard addition method applied to the urinary quantification of nicotine in the presence of cotinine and anabasine using surface enhanced Raman spectroscopy and multivariate curve resolution*. Analytica Chimica Acta, 2013. **760**: p. 53-59.
 107. Villa, J.E. and R.J. Poppi, *A portable SERS method for the determination of uric acid using a paper-based substrate and multivariate curve resolution*. Analyst, 2016. **141**(6): p. 1966-1972.
 108. Torul, H., et al., *Glucose determination based on a two component self-assembled monolayer functionalized surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS) probe*. Analytical Methods, 2014. **6**(14): p. 5097-5104.
 109. Saha, A. and N.R. Jana, *Paper-Based Microfluidic Approach for Surface-Enhanced Raman Spectroscopy and Highly Reproducible Detection of*

- Proteins beyond Picomolar Concentration*. ACS Applied Materials & Interfaces, 2015. **7**(1): p. 996-1003.
110. Kasera, S., et al., *Quantitative SERS using the sequestration of small molecules inside precise plasmonic nanoconstructs*. Nano Lett., 2012. **12**(11): p. 5924-8.
 111. Kho, K.W., et al., *Frequency Shifts in SERS for Biosensing*. ACS Nano, 2012. **6**(6): p. 4892-4902.
 112. Guerrini, L., et al., *Highly Sensitive SERS Quantification of the Oncogenic Protein c-Jun in Cellular Extracts*. Journal of the American Chemical Society, 2013. **135**(28): p. 10314-10317.
 113. Perumal, J., et al., *Design and fabrication of random silver films as substrate for SERS based nano-stress sensing of proteins*. RSC Advances, 2014. **4**(25): p. 12995-13000.
 114. Wang, Y., et al., *Exploring the Effect of Intermolecular H-Bonding: A Study on Charge-Transfer Contribution to Surface-Enhanced Raman Scattering of p-Mercaptobenzoic Acid*. The Journal of Physical Chemistry C, 2014. **118**(19): p. 10191-10197.
 115. Chen, L., et al., *Mercury species induced frequency-shift of molecular orientational transformation based on SERS*. Analyst, 2016. **141**(15): p. 4782-4788.
 116. Tang, B., et al., *Ultrasensitive, Multiplex Raman Frequency Shift Immunoassay of Liver Cancer Biomarkers in Physiological Media*. ACS Nano, 2016. **10**(1): p. 871-879.
 117. Yu, Z., et al., *The mechanism of an enzymatic reaction-induced SERS transformation for the study of enzyme-molecule interfacial interactions*. Physical Chemistry Chemical Physics, 2016. **18**(46): p. 31787-31795.
 118. Ma, H., et al., *Multiplex Immunochips for High-Accuracy Detection of AFP-L3% Based on Surface-Enhanced Raman Scattering: Implications for Early Liver Cancer Diagnosis*. Anal. Chem., 2017. **89**(17): p. 8877-8883.
 119. Cabalin, L.M. and J.J. Laserna, *Fast spatially resolved surface-enhanced Raman spectrometry on a silver coated filter paper using charge-coupled device detection*. Analytica Chimica Acta, 1995. **310**(2): p. 337-45.
 120. Abbas, A., et al., *Multifunctional Analytical Platform on a Paper Strip: Separation, Preconcentration, and Subattomolar Detection*. Anal. Chem. (Washington, DC, U. S.), 2013. **85**(8): p. 3977-3983.
 121. Zhang, W., et al., *Brushing, a simple way to fabricate SERS active paper substrates*. Analytical Methods, 2014. **6**(7): p. 2066-2071.
 122. Dou, B., et al., *Direct measurement of beta-agonists in swine hair extract in multiplexed mode by surface-enhanced Raman spectroscopy and microfluidic paper*. Electrophoresis, 2015. **36**(3): p. 485-487.
 123. Kim, W.-S., et al., *A low-cost, monometallic, surface-enhanced Raman scattering-functionalized paper platform for spot-on bioassays*. Sensors and Actuators B: Chemical, 2016. **222**: p. 1112-1118.

124. Zheng, T., et al., *Manual-slide-engaged paper chip for parallel SERS-immunoassay measurement of clenbuterol from swine hair*. Electrophoresis, 2016. **37**(3): p. 418-24.
125. Torul, H., et al., *Paper membrane-based SERS platform for the determination of glucose in blood samples*. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2015. **407**(27): p. 8243-8251.
126. Sommer, K., K.-H. Wünsch, and M. Zettler, *Wissensspeicher Chemie*. 1998, Berlin: Volk und Wissen Verlag GmbH & Co. OHG. 116.
127. Moore, W.J., *Physical Chemistry*, ed. 3rd. 1962, London: Prentice-Hall International. 303-305.
128. Mirsky, V.M., *Artificial Receptors for Chemical Sensors*. 2010, Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. 1-7.
129. Shahbeig, H., et al., *A new adsorption isotherm model of aqueous solutions on granular activated carbon*. Vol. 9. 2013. 243-254.
130. Tarafder, A. and M. Mazzotti, *A Method for Deriving Explicit Binary Isotherms Obeying the Ideal Adsorbed Solution Theory*. Chemical Engineering & Technology, 2012. **35**(1): p. 102-108.
131. Hecht, M., et al., *Gated hybrid delivery systems: En route to sensory materials with inherent signal amplification*. Coordination Chemistry Reviews, 2013. **257**(17): p. 2589-2606.
132. Climent, E., et al., *Controlled Delivery Systems Using Antibody-Capped Mesoporous Nanocontainers*. Journal of the American Chemical Society, 2009. **131**(39): p. 14075-14080.
133. Climent, E., et al., *Antibody-Capped Mesoporous Nanoscopic Materials: Design of a Probe for the Selective Chromo-Fluorogenic Detection of Finasteride*. ChemistryOpen, 2012. **1**(6): p. 251-259.
134. Climent, E., et al., *Selective, Sensitive, and Rapid Analysis with Lateral-Flow Assays Based on Antibody-Gated Dye-Delivery Systems: The Example of Triacetone Triperoxide*. Chemistry – A European Journal, 2013. **19**(13): p. 4117-4122.
135. Salinas, Y., et al., *Fluorogenic detection of Tetryl and TNT explosives using nanoscopic-capped mesoporous hybrid materials*. Journal of Materials Chemistry A, 2013. **1**(11): p. 3561-3564.
136. Salinas, Y., et al., *Chromo-Fluorogenic Detection of Nitroaromatic Explosives by Using Silica Mesoporous Supports Gated with Tetrathiafulvalene Derivatives*. Chemistry – A European Journal, 2014. **20**(3): p. 855-866.
137. Climent, E., et al., *Multiplexing detection of the explosives TATP, TNT and PETN with a quick, sensitive and selective dip-stick assay using antibody-gated mesoporous materials*. Manuskript eingereicht.
138. Incorporated, H.I., *FluoroMax®-4 & FluoroMax®-4P with USB, in Operation Manual Part number J810005 rev. D*. 2012, HORIBA Instruments Incorporated. p. 2-2.
139. Bolz, A., et al., *Glass fibre paper-based test strips for sensitive SERS sensing*. Analytical Methods, 2016. **8**(6): p. 1313-1318.

140. Scientific, H., *LabRAM HR System User Manual (31 087 154)*. 2010, HORIBA Scientific. p. 29, 33.
141. Kaiser Optical Systems, I., *RAMANRXN 1 Operations Manual*, in 2006675 R8. 2014, Kaiser Optical Systems: Ann Arbor, MI 48103, USA. p. 22.
142. Bolz, A., et al., *μ PADs with SERS Detection*. Analyst, in Revision.
143. Coluccio, M.L., et al., *Silver-based surface enhanced Raman scattering (SERS) substrate fabrication using nanolithography and site selective electroless deposition*. Microelectronic Engineering, 2009. **86**(4-6): p. 1085-1088.
144. Nilghaz, A., L.Y. Zhang, and W. Shen, *Coffee stains on paper*. Chem Eng Sci, 2015. **129**: p. 34-41.
145. Blatchford, C.G., J.R. Campbell, and J.A. Creighton, *Plasma resonance — enhanced raman scattering by absorbates on gold colloids: The effects of aggregation*. Surface Science, 1982. **120**(2): p. 435-455.
146. Zhang, Y., et al., *Analyses of enrofloxacin, furazolidone and malachite green in fish products with surface-enhanced Raman spectroscopy*. Food Chem., 2012. **135**(2): p. 845-50.
147. *REGULATION (EC) No 470/2009 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL (Classification of pharmacologically active substances under Regulation (EEC) No 2377/90)*. Official Journal of the European Union, 2009(152): p. 11-22.
148. Xu, Y., et al., *Ultrasensitive Detection of Enrofloxacin in Chicken Muscles by Surface-Enhanced Raman Spectroscopy Using Amino-Modified Glycidyl Methacrylate-Ethylene Dimethacrylate (GMA-EDMA) Powdered Porous Material*. Food Analytical Methods, 2014. **7**(6): p. 1219-1228.
149. Neugebauer, U., et al., *Vibrational spectroscopic characterization of fluoroquinolones*. Spectrochim Acta A, 2005. **61**(7): p. 1505-17.
150. Siiman, O., et al., *Surface-enhanced Raman scattering by citrate on colloidal silver*. The Journal of Physical Chemistry, 1983. **87**(6): p. 1014-1023.
151. Han, Y., et al., *Effect of oxidation on surface-enhanced Raman scattering activity of silver nanoparticles: a quantitative correlation*. Anal. Chem., 2011. **83**(15): p. 5873-5880.
152. Joseph, V., et al., *SERS enhancement of gold nanospheres of defined size*. Journal of Raman Spectroscopy, 2011. **42**(9): p. 1736-1742.
153. Bhunia, S., et al., *Ionic and tautomeric conformers of adenine at different pH investigated by Raman spectroscopy combined with DFT calculations*. Journal of Raman Spectroscopy, 2016. **47**(9): p. 1086-1094.
154. Srnová-Šloufová, I., et al., *Surface-Enhanced Raman Scattering and Surface-Enhanced Resonance Raman Scattering Excitation Profiles of Ag-2,2'-Bipyridine Surface Complexes and of [Ru(bpy)₃]²⁺ on Ag Colloidal Surfaces: Manifestations of the Charge-Transfer Resonance Contributions to the Overall Surface Enhancement of Raman Scattering*. Inorganic Chemistry, 2000. **39**(16): p. 3551-3559.

155. Lowe, A.R., J.S. Cox, and P.R. Tremaine, *Thermodynamics of aqueous adenine: Standard partial molar volumes and heat capacities of adenine, adeninium chloride, and sodium adeninate from $T=283.15\text{K}$ to 363.15K* . The Journal of Chemical Thermodynamics, 2017. **112**(Supplement C): p. 129-145.